

AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR
KINETIK DER MONO- UND GRANULOZYTEN
BEI CHRONISCHER LYMPHATISCHER LEUKÄMIE

Wilfried Heltzel

—
1975





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der I. Medizinischen Abteilung
des Städtischen Krankenhauses München - Schwabing
Chefarzt: Prof. Dr. H. Begemann

AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR KINETIK DER
MONO- UND GRANULOZYTEN BEI CHRONISCHER LYMPHATISCHER
LEUKÄMIE.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Wilfried Heltzel

aus

Offenbach/Main

München

1975



Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der
Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. H. Begemann
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. E. Buchborn
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 25.11.1975

GLIEDERUNG

A. Einführung

B. Material und Methode

I Kasuistik

II Markierungsverfahren und Auswertung

C. Ergebnisse

I. Patient A.R.

II. Patient M.S. (M.S.I)

III. Patient M.S. (M.S.II)

D. Diskussion

E. Zusammenfassung

F. Literaturverzeichnis

A. Einführung

Der hämatologischen Forschung ist es in den letzten Jahrzehnten gelungen, einen wesentlichen Einblick in die Blutzellbildung zu geben.

Durch die von EHRLICH (22) vor der Jahrhundertwende angewandte Triazidfärbung, konnte eine Beschreibung und Zuordnung der einzelnen Zellgruppen erfolgen. Auch die Knochenmarkuntersuchungen beim Menschen und die genaue Registrierung der Zellveränderungen im Blut erbrachten ebenfalls neue Erkenntnisse. Die Wirkung chemischer Substanzen auf die Blutzellentwicklung, das Anlegen von Zellkulturen, die Beschreibung und Registrierung der Mitosen sowie ihre kinematographische Messung (8) waren weitere experimentelle Bemühungen der letzten Jahrzehnte.

Als einen wesentlichen Fortschritt in der Untersuchung von Bildung, Leben und Abbau von Blutzellen, besonders bei Untersuchungen in-vivo, war die Verwendung von radioaktiven Isotopen zur Markierung des Kernstoffwechsels. Besonders die Kombination der Techniken, wie z.B. die Verwendung der klassischen Methode des gefärbten Zellausstriches mit der Isotopentechnik, waren erfolgreich.

Die Untersuchung der Granulozyten- und Monozytenkinetik ist in den letzten Jahrzehnten verstärkt vorgenommen worden. Auch hier wurden verschiedene Wege beschritten (1,6,8,11,12,12,16,17,18, 24,25,44,46,47,49,51,52,56,65,66). Es sollen hier

zur zwei Methoden näher betrachtet werden und zwar die Markierung der DNA-Vorstufen mit DFP³² und mit ³H-Thymin.

Beide Methoden haben sich seit einigen Jahren bei der Bestimmung der Regenerationsintensität von Geweben als geeignet erwiesen. Es wird mit beiden Methoden der Kernstoffwechsel der Zellen markiert. Die klassische Nucleinsäure-Vorstufe, O-Phosphat, mit ³²P markiert, wie sie auch in DFP³² enthalten ist, wird sowohl in die DNS als auch in die RNS inkorporiert. Der Einbau in die Nucleinsäuren erfolgt in der Interphase. Der Phosphatpool des Körpers ist sehr groß und so findet sich ³²P auch in den Phospholipiden, Phosphoproteinen und in anderen organischen Phosphaten des Körpers. Dies wirkt sich als Nachteil aus, da zur exakten Bestimmung des Kernstoffwechsels ³²P erst aus den übrigen Verbindungen herausgelöst werden muß (43). Das Herauslösen des ³²P aus den anderen Verbindungen erfolgt mit Hilfe der Säure- oder Fermenthydrolyse. Die Auswertung erfolgt meistens mit der Autoradiographischen Technik (21).

Der beta-Strahler-³²P hat eine hohe Spannung (1,7 MeV), die bei der Autoradiographie zu einer verstärkten background-Bildung führt. Außerdem hat ³²P im Vergleich zu anderen Isotopen mit 14 Tagen eine nur kurze Halbwertszeit (¹⁴C = T 1/2 von 5600 Jahren und ³H-Thymin = T 1/2 von 12,2 Jahren). Dadurch ist die Handhabung bei der Autoradiographie begrenzt, was sich auf die Qualität der Präparate auswirkt. Ein Vorteil gegenüber anderen Isotopen,

vielleicht der einzige, ist die Feststellbarkeit auch noch einer sehr geringen Aktivität in den Zellen. Um die o.g. Nachteile zu umgehen, wurden später vorwiegend die Original-Bausteine der DNS Adenin und Thymidin verwendet.

Es ist belegt (38), daß Thymidin von den Zellen selectiv in die DNS eingebaut wird, eine Übersicht findet sich bei HABERS (38). Es hat sich weiter gezeigt, daß die ^3H -Markierung des Thymidin in den Zellen stabil verankert ist. Der Einbau erfolgt nur in der Phase der DNS-Verdoppelung, also in enger zeitlicher Beziehung zur Zellteilung (24).

Damit war der Weg geschaffen, die DNS ohne Zwischenschritte und zusätzliche Bearbeitung selectiv zu markieren. Eine geringe Energie (0,018 MeV), die eine geringere Streuung und somit eine schwächere background-Bildung ergibt, die Halbwertszeit von 12,2 Jahren und eine Zerfallrate von 0,016 %/die ergeben eine weitere, bessere Verwendung bei der Autoradiographie.

^3H -Thymidin ist verwendbar für Untersuchungen in-vitro und in-vivo. Ein gewisser Nachteil von ^3H -Thymidin ist seine geringe Strahlentiefe (1 Mikrometer), was bei Zellen mit etwas dickeren Kernen eine Vergrößerung des statistischen Fehlers bedeutet (42). Auch die größere Strahlenbelastung ist bei der Handhabung von ^3H -Thymidin zu beachten. Allerdings sind bei den bisherigen Untersuchungen keine Strahlenschäden festgestellt worden (24,42). Das Mar-

kierungsverfahren mit ^3H -Thymidin ist in früheren Arbeiten ausführlich beschrieben worden (17, 18, 24, 25, 27, 28). Eine kritische Diskussion und ein Vergleich mit anderen Methoden wurde von LAJTHA et al. (43) gegeben.

CRONKITE, FLIEDNER et al. (17) wandten dieses Markierungsverfahren als erste 1957 mit Erfolg bei der Untersuchung der Granulozytopoese an (16, 17, 18, 19, 24, 23, 27, 28). Die Untersuchung erfolgte nach einmaliger ^3H -Thymidin-Injektion bei Tieren und bei Patienten, von denen einige hämatologisch erkrankt waren (19, 24, 26, 27, 28). FLIEDNER und CRONKITE et al. (17) konnten so die kinetischen Parameter der Granulopoese im wesentlichen bestimmen oder neu ermitteln, damit waren die Kenntnisse über die Granulopoese auf eine neue Grundlage gestellt worden.

Auch bei der Erforschung der Monozyten ist dieses Markierungsverfahren angewandt worden (23, 66, 67) und hat zum besseren Verständnis der Entwicklung dieser Zellgruppe beigetragen.

Neben den Untersuchungen nach einmaliger Markierung in Form einer flash-Injektion, wurden auch Dauermarkierungen über einige Tage vorgenommen (13, 33, 67). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen konnten die Daten nach flash-Injektion entweder bestätigen oder genauer bestimmen. So konnte festgestellt werden, daß z.B. bei Personen mit einem bakteriellen Infekt der Umsatz der Granulozyten und Monozyten beschleunigt ist, auch muß eine verkürzte Reifungszeit dieser Zellen angenommen werden (23, 24).

Im weiteren fanden sich bei Patienten mit einer myeloischen Leukämie (24) oder einer chronischen Neutropenie (6) Umsatzwerte für die Granulo- und Monozyten wie sie auch bei hämatologisch gesunden Patienten zu finden sind.

Bei Patienten mit einer bestehenden chronischen lymphatischen Leukämie ist der Umsatz der Granulo- und Monozyten bisher kaum untersucht worden (12, 23, 67). So bot sich eine weitere Gelegenheit bei zwei Patienten, die hinsichtlich ihrer Lymphozytenkinetik untersucht wurden (61), die Auswirkung der chronischen lymphatischen Leukämie, als quasi verdrängende Bluterkrankung, auf den Umsatz der Blutgranulozyten und Blutmonozyten zu überprüfen.

B. Material und Methode

I Kasuistik

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an zwei älteren männlichen Patienten vorgenommen, die beide seit mehreren Jahren an einer klinisch manifesten chronischen lymphatischen Leukämie litten. Beide Patienten wurden über die Kautelen einer Untersuchung ihres Zellumsatzes vor extracorporaler Blutbestrahlung aufgeklärt und fanden sich zu diesem Verfahren bereit. Die Untersuchungen wurden unter der Überwachung eines Strahlenschutzbeauftragten ⁺⁾ durchgeführt.

⁺⁾ Hierfür danke ich Herrn Physikdirektor
Dr. H. Czempel

Patient A.R.

Die Anamnese des 72-jährigen Patienten zum Untersuchungszeitpunkt ergab eine seit mehreren Jahren bestehende chronische Emphysebronchitis und in größeren Abständen pektanginöse Beschwerden. Vor drei Jahren machte der Patient einen sehr starken Zoster der Lumbalsegmente durch und seit ca. zwei Jahren stellte er eine Leistungsminderung, Gewichtsverlust und eine ständige Größenzunahme der Leistenlymphknoten fest. Bei einer Untersuchung Anfang 1970 wurden bei ihm $145\ 000/\text{mm}^3$ Leukozyten gezählt, die einen Anteil von 94 % Lymphozyten aufwiesen. Es konnte weiter eine erhebliche lymphatische Infiltration des Knochenmarks (70 % der Knochenmarkszellen) und eine sehr starke Schwellung der Leistenlymphknoten festgestellt werden. Die Milz wurde damals handbreit vergrößert getastet. Aufgrund der Befunde wurde die Diagnose einer chronischen lymphatischen Leukämie gestellt und der Patient einer Milzbestrahlung zugeführt (4200 rd in 25 Sitzungen). Es erfolgte daraufhin ein signifikanter Rückgang der Milz- und Lymphknotenschwellungen. Die Leukozytenzahl fiel auf $20\ 000/\text{mm}^3$ ab. Ende 1970 kam es allerdings zu einer Zunahme der Herpesbeschwerden und der allgemeinen Symptome.

Bei der Aufnahme in unsere Klinik am 1.12.1970 wirkte der Patient altersentsprechend, bei einem Körpergewicht von 60 kg. Es waren deutliche klinische Zeichen einer Anämie feststellbar. Die Milz war 8 cm unter dem Rippenbogen derb tast-

bar, die Leber konnte um 4 cm unter dem Rippenrand palpiert werden. Weiche, nicht druckdolente, hühnereigroße Lymphknoten waren beiderseits in den Achselhöhlen, in den Supraclaviculargruben und in den Leistenbeugen palpabel. Auf den Röntgen-Aufnahmen des Thorax stellten sich im Bereich der Hili beiderseits geringe Auftreibungen dar.

An Laborwerten ergaben sich: Hb 10,0 g%, Erythrozyten 3,36 Mio, HbE 29,8 pg, Leukozyten 123 000/mm³ (davon waren 3 % große und 91,0 % kleine Lymphozyten, 3,6 % Segmentkernige, 0,6 % Stabkernige, 1,2 % Monozyten und 0,6 % Eosinophile), 210 000/mm³ Thrombozyten, 20 % Retikulozyten. BKS 14 : 35, Elektrophorese: Gesamteiweiß 6,5 g%: 63,6 / 3,3 / 8,6 / 9,3 / 15,2. Bei der Immunelektrophorese wurde eine Verminderung von I_{gA} (66 mg/100 ml) und I_{gM} (21 mg/100 ml) gefunden. Paraproteine konnten nicht nachgewiesen werden. Der Tuberkulintest mit 0,05 mg Alt-Tuberkulin löste eine 0,5 mm große Infiltration aus. Mit einer 1 %igen Lösung ergab der DNCB-Test eine schwach positive Reaktion. Eine Lymphozytenkultur mit PHA zeigte den typischen Transformationsdefekt einer CLL.

Mit der einwöchigen ³H-Thymidin-Markierung wurde am 1.12.70 begonnen (Methodik sh. Seite 12). In den acht Wochen unserer Untersuchungen waren keine therapeutischen Maßnahmen nötig, da sich der hämatologische Status des Patienten nicht veränderte; damit waren für den Untersuchungszeitraum weitgehende steady-state-Bedingungen gegeben.

Ab der sechsten Woche wurde unter zweitägiger Heparinzufuhr ein CIMINO-Shunt angelegt, der sich aber nicht funktionell ausbildete, es mußte daher auf die vorgesehene extracorporale Blutbestrahlung verzichtet werden. In der Folgezeit vergrößerten sich die axillären Lymphknoten spürbar, so daß ab der 9. Woche täglich 5 mg Leukeran und 2 x täglich 10 mg Ultralan verabfolgt werden mußten. Die Behandlung wurde zwei Monate fortgeführt, wobei das Wachstum der Lymphknoten unterbrochen und eine leichte Verkleinerung erreicht werden konnte. Die Leukozytenzahl sank in dieser Zeit auf $50\,000/\text{mm}^3$ ab. Gleichzeitig verringerte sich auch das Hb auf 8,8 g%, was ein Absetzen der Medikamente nötig machte. Es wurde dann eine erneute Milzbestrahlung vorgenommen, die sich über acht Sitzungen erstreckte. Nach dieser Behandlung war die Milz nicht mehr palpabel und die Leukozytenzahl betrug noch $25\,000/\text{mm}^3$. Im roten Blutbild kam es zu einer allmählichen Konsolidierung. Der nun als kompensiert zu betrachtende Zustand konnte in den nächsten Monaten aufrecht erhalten werden, zumal keine erneute Vergrößerung der Lymphknoten festgestellt werden konnte. Allerdings bedurfte die sich wieder gering vergrößernde Milz nach einigen Wochen einer erneuten Strahlenbehandlung. Danach war die hämatologische Erkrankung nicht mehr behandlungsbedürftig; es stellte sich jedoch eine allmähliche Alterskachexie ein, der der Patient drei Jahre nach unserer Untersuchung erlag.

Patient M.S. (I. Untersuchung = M.S.I)

Bei diesem Patienten war es möglich, eine Untersuchung mit Dauermarkierung und später mit einer flash-Markierung vorzunehmen. Die Untersuchungen werden im folgenden als MS I und MS II bezeichnet.

Der Patient MS gab bei der Anamneseerhebung an, daß bei ihm vor 3 1/2 Jahren wegen einer Cholelithiasis eine Cholezystektomie vorgenommen werden mußte. Dabei sei eine Lymphozytose von 12 000/mm³ festgestellt worden. Seit 2 1/2 Jahren bemerkte er eine zunehmende Leistungsminderung, Schweißneigung und Abgeschlagenheit. Im September 1968 wurde dann bei einer weiteren Untersuchung eine starke Lymphozytose im Blutbild festgestellt. Die daraufhin durchgeführte Knochenmarkspunktion erbrachte eine lymphatische Infiltration des Knochenmarks.

An Hand der Befunde wurde die Verdachtsdiagnose einer chronischen lymphatischen Leukämie gestellt. Im Laufe des Jahres 1969 stiegen die Leukozyten auf über 30 000/mm³ und 1970 wurden dann mehr als 40 000/mm³ gezählt. Das Allgemeinbefinden verschlechterte sich zunehmend. Auch waren nun erstmals vergrößerte Lymphknoten und die Schwellung der Milz festzustellen. Im weiteren bestand die Neigung zur Epistaxis.

Der Patient wurde dann im Februar 1971 zur extracorporalen Blutbestrahlung aufgenommen. Dabei fielen klinisch mäßige Anämiezeichen, bei kompensierten Kreislaufverhältnissen auf. Gewicht: 60 kg. Die Leber war nicht vergrößert. Die Milz

konnte im tiefen Inspirium 2 cm unter dem Rippenbogen getastet werden. Sie fühlte sich weich an. Submandibulär, cervical, inguinal beiderseits und links axillär konnten einzelne ca. bohngroße weiche indolente und gut verschiebbare Lymphknoten getastet werden. In der rechten Axilla fand sich ein walnußgroßes Lymphom. Bei der Röntgenaufnahme des Thorax stellten sich die Hili nicht verbreitert dar. Die abdominelle Lymphographie zeigte Speicherungsdefekte im Bereich der paraaortalen Lymphknotengruppen.

Laborwerte: Hb 13,0 g%, Erythrozyten 4,49 Mio., HbE 29,0 pg, Leukozyten 130 000/mm³ (davon waren: kleine Lymphozyten 90,0 %, große Lymphozyten 2,4 %, Monozyten 0,9 %, Eosinophile 1,5 %, Segmentkernige 4,4 %, Stabkernige 0,8 %). Thrombozyten 75 000/mm³, Retikulozyten 40 ‰. Die Elektrophorese ergab: Gesamteiweiß 8,1 g%: 5,5 / 2,9 / 5,2 / 7,5 / 27,7. Bei einer Immunelektrophorese war eine Vermehrung von I_G (3420 mg/100 ml) und von I_M (440 mg/100 ml) festzustellen. Ein Hinweis auf eine Paraproteinämie ergab sich auch bei mehreren Kontrollen nicht.

Die übrigen Laborwerte waren im Normbereich, lediglich die Werte von Harnstoff und Creatinin waren leicht erhöht, was, wie die durchgeführte nephrologische Isotopen-Diagnostik zeigte, als eine tubuläre Funktionsstörung zu deuten war. Ein angefertigter Knochenmarksausstrich zeigte von 200 Zellen 180 Lymphozyten, unter denen sich einige unreife Zellen befanden. Die Erythropoese

zeigte fast nur polychromatische Normoblasten. Eine Reifungsstörung war bei der Granulopoese zu sehen. Das typische Bild einer verzögert einsetzenden Lymphozyten-Transformation auf maximal 1/15 des Normalwertes konnte in der PHA-Kultur eruiert werden. Ein deutlicher Spätgipfel war dabei nicht festzustellen. Negativ fielen der DNCB-Test und die Tuberkulin-Reaktion aus.

Der Patient erhielt am 26.2.1971, unter vorheriger dreitägiger Heparinzufuhr, am linken Unterarm einen CIMINO-Shunt angelegt.

Die Untersuchungen begannen am 3.3.1971. Während der Untersuchungszeit traten keine Veränderungen des hämatologischen Status auf. Vom 14. Tag an sank die Leukozytenzahl ab und betrug in der 4. Woche noch $80\,000/\text{mm}^3$, zur gleichen Zeit bildete sich der Shunt funktionstüchtig aus.

Mit der extracorporalen Blutbestrahlung von täglich 450 rd auf 4 Blutvolumen wurde am 29. Tag begonnen. Da die Leukozytenzahl am 41. Tag bereits bei $14\,000/\text{mm}^3$ (mit 73 % Lymphozyten) lag, konnte eine Pause eingelegt werden, in der der Shunt aber leider thrombosierte. Der Patient benötigte allerdings im weiteren Verlauf keine weitere Strahlen- oder Chemotherapie mehr.

Patient M.S. II (Zweite Untersuchung bei Pat. M.S.)

Die zweite Untersuchung begann nach dem Ende der Blutbestrahlung am 28.4.1971. Die Laborwerte betrugen zu diesem Zeitpunkt: Hb 13,0 g%, HbE 29 pg, Erythrozyten 4,49 Mio., Leukozyten $15\,000/\text{mm}^3$,

(davon waren: 71 % kleine Lymphozyten, 8 % große Lymphozyten, 9 % Eosinophile, 9 % Segmentkernige, 2 % Stabkernige, 1 % Monozyten), Thrombozyten $75\,000/\text{mm}^3$, Retikulozyten 40 %. Die übrigen Laborwerte waren nicht signifikant verschieden von denen der ersten Untersuchung. Der Zustand des Patienten blieb weiterhin so stabil, daß auch in den folgenden Wochen keine Therapie nötig war. Es konnten weder neu vergrößerte Lymphknoten noch eine signifikant vergrößerte Milz palpiert werden. Der Patient ist auch bis zu dem gegenwärtigen Zeitpunkt (Mai 1975) bis auf gehäufte Infekte symptomfrei.

II Markierungsverfahren und Auswertung

Als Isotop verwendeten wir ^3H -Thymidin-desoxyribosid aus dem Radio Chemical Centre in Amersham, mit einer spezifischen Aktivität von 5 Ci/mM. Bei der Dauermarkierung über 7 Tage (Pat. A.R. und M.S. I) wurde am 1. Tag $2/3$ der Tagesdosis in Form einer flash-Injektion intravenös gegeben. Die weitere Verabfolgung erfolgte kontinuierlich mit einer Dosierpumpe über einen Subclaviakatheter. Die Dosierpumpe war so eingestellt, daß eine Dosis von 0,15 Mikrocurie/kg Körpergewicht in 24 Stunden erreicht wurde. Bei dem Patienten M.S. I erfolgte am Ende dieser Markierungszeit eine einwöchige Gabe von kaltem Thymidin in der hundertfachen Menge der Tagesdosis. Blutproben wurden am 1. Tag stündlich

und an den folgenden Tagen in einem Abstand von 10 und 14 Stunden entnommen. Die Zahl der Leukozyten wurde durch einen Coulter Counter bestimmt. Nach bekannter Methode wurden Ausstriche des peripheren Blutes und der Zellkonzentrate angefertigt. Anschließend wurden die Präparate in Methylalkohol fixiert und autoradiographiert. (Kodak Stripping-Film AR 10). Die ausgewerteten Proben zeigten den Zeitpunkt an, an dem die Markierungsintensität maximal markierter Zellen noch in einzelne Körner mikroskopisch auflösbar war. So konnten nach einer Exposition von 100 Tagen die Filme entwickelt werden. Anschließend erfolgte die Färbung der Präparate nach Giemsa bei pH 5,7, was zu einer guten Darstellung der Zellen führte. Um die Fähigkeit der Zellen zur DNS-Synthese festzustellen, wurde vor der in-vivo Verabfolgung von ^3H -Thymin Proben des Patientenblutes, das vorher heparinisiert wurde, drei Stunden lang bei 37° Celsius in 1 Mikrocurie/ml inkubiert und danach in gleicher Weise wie die vivo-Präparate autoradiographisch verarbeitet.

Bei der zweiten Untersuchung des Patienten M.S. (M.S. II) erfolgte die Markierung nur über 24 Stunden. Das Isotop wurde um 11^{00} Uhr in einer Dosis von 0,1 Mikrocurie/g Körpergewicht (das entspricht einer Dosis von 6 mCi) in Form einer flash-Injektion i.v. gegeben und danach wurde bis 11^{00} Uhr des nächsten Tages über einen Venenkatheter eine Dosis von 380 Mikrocurie/Std. verabfolgt, was einer Dosis von 0,15 Mikrocurie/Kg Körpergewicht/

24 Std. entspricht.

Am ersten Tag wurden die Blutproben in stündlichem Abstand entnommen und an den folgenden Tagen betrug der Abstand 12 Stunden. Die weitere Bearbeitung der Präparate erfolgte analog der ersten Untersuchung.

Die zytologische Differenzierung wurde bei beiden Untersuchungen nach allgemein gültigen Kriterien durchgeführt (2). Im einzelnen wurden folgende Kriterien beachtet (wobei die Veränderungen, die durch den Strippingfilm an der Zellfärbung vorsichgehen, berücksichtigt sind):

Die segmentkernigen neutrophilen Granulozyten waren zahlenmäßig die stärkste Fraktion. Ihr Durchmesser war mit ca. $13 - 15 \mu$ deutlich kleiner als der der Monozyten. Das Zytoplasma war leicht rötlich und zeigte eine feine Granulierung. Der Zellkern war rot und hatte meistens 2 - 3 Segmente, bei einigen Zellen waren es bis zu 5 Segmente. Die einzelnen Segmente waren durch Brücken miteinander verbunden.

Die stabkernigen neutrophilen Granulozyten waren zahlenmäßig die kleinste Fraktion. In Größe und Farbe entsprachen sie den segmentkernigen neutrophilen Granulozyten. Es wurden nur solche Zellen gezählt, deren Kerne eindeutig die Form eines Stabes hatten oder die nur eine leichte Einbuchtung zeigten, die jedoch nicht größer als $1/3$ des Zellkerndurchmessers war.

Die Monozyten waren die größten Zellen im Ausstrich. Ihr Durchmesser konnte bis zu $20\ \mu$ erreichen. Das Zytoplasma zeigte einige feine rötliche Granula und war graublau. Zumeist waren vakuolenartige Aufhellungen zu sehen. Der Zellkern war ziegelrot und bei den meisten Zellen zumeist mehr oder minder stark eingebuchtet, bei einigen Zellen jedoch mehr länglich und nur leicht eingedellt.

Die eosinophilen Granulozyten waren den neutrophilen Granulozyten in Form und Größe ähnlich. Das Zytoplasma war gelbgrün und hatte große plumpe Granula. Auch der Zellkern hatte einen gelbgrünen Schimmer und wies zumeist zwei Segmente auf. Nur einige Zellen hatten einen stabförmigen Zellkern.

Der Anteil der hier untersuchten Zellen, der Granulo- und Monopoese im peripheren Blut war bei beiden Patienten nicht sehr hoch, so daß zum Teil mehrere Ausstrichpräparate pro Termin für die Auswertung verwendet werden mußten. Im einzelnen wurden durchschnittlich pro Termin bei dem Patienten A.R.: 80 Monozyten, 90 Eosinophile, 40 Stabkernige und 200 Segmentkernige; bei dem Patienten M.S. I. Untersuchung: 70 Monozyten, 80 Eosinophile, 30 Stabkernige und 150 Segmentkernige, bei der II. Untersuchung: 100 Monozyten, 100 Eosinophile, 40 Stabkernige und 200 Segmentkernige gezählt. Die Veränderungen der lymphatischen Zellreihe sind in einer anderen Arbeit bereits veröffentlicht worden (61).

Aus dem prozentualen Anteil markierter Zellen je Zellklasse wurde der Markierungsindex bestimmt und durch die Auszählung der Körnchen über jedem Zellkern wurde die Markierungsintensität ermittelt. Bei einigen Präparaten wurde eine geringe background-Markierung festgestellt, die die Körnchenzahl je Zelle beeinflussen könnte, um diesen Fehler zu vermeiden, wurde an Leerpräparaten für jede Zellfläche die background-Grenze bestimmt. Die Leerpräparate wurden vor der Isotopenverabfolgung hergestellt. Bei der Bestimmung der Intensität und des Markierungsindex wurden dann nur solche Werte berücksichtigt, die über dieser background-Grenze von durchschnittlich 10 Körnchen je Zellkern lagen.

C. Ergebnisse

I. Patient A.R.

(Kontinuierliche ^3H -TDR-Applikation über
7 Tage)

1. Monozyten

a) Bei dem Patienten A.R. finden sich die ersten markierten Monozyten ab der 24. Stunde nach Infusionsbeginn in der Blutbahn (Tabelle I). Der Markierungsindex (Abb. I) beträgt bereits 15 %, er steigt rasch an und erreicht am 8. Tag (192. Stunde) das Maximum von 100 %. Dieser Wert bleibt dann für ca. 2 Tage mit leichten Schwankungen bestehen, um ab dem 9.

Tag allmählich abzufallen. So beträgt am 12. Tag (288. Stunde) der Index nur noch 50 % und bis zum 20. Tag sind alle markierten Zellen aus der Blutbahn verschwunden.

b) Die Markierungsintensität (Abb. 2) beginnt mit 18 Körnchen, steigt rasch an und fällt danach bis zum 3. Tag wieder auf 11 Körnchen ab. Erst nach diesem Zeitpunkt kommt es zu einem steilen Anstieg, der kurz nach dem Ende der Infusion (8. Tag) mit dem höchsten Wert von 53 Körnchen endet. Danach sinkt die Markierungsintensität wieder ab, wobei sie in 112 Stunden halbiert wird und bei den letzten markierten Zellen noch 12 Körnchen beträgt.

2. Stabkernige neutrophile Granulozyten

a) Bei den Stabkernigen beginnt die Markierung in der 94. Stunde (Tabelle I) mit einem Markierungsindex (Abb. 3) von 6 %. Es kommt auch bei dieser Zellgruppe zu einem raschen Anstieg der markierten Zellen, der zwischen dem 9. und 10. Tag nach Infusionsbeginn 100 % erreicht. Dieser Höchstwert bleibt nicht wie bei den Monozyten für einige Zeit bestehen, sondern sinkt sofort wieder ab, so daß bis zum 16. Tag (384. Stunde) nur noch 50 % der Zellen markiert sind. Die letzten markierten Stabkernigen werden am 22. Tag in der Blutbahn gefunden.

b) Die Markierungsintensität (Abb. 4) beträgt hier am Anfang 14 Körnchen und steigt bis zum

8. Tag, mit einem kurzen Absinken um den 7. Tag, auf die höchste mittlere Körnchenzahl von 29 Körnchen an. Danach sinkt die Intensität wieder kontinuierlich ab, wobei eine Halbierung von 167 Stunden (7 Tagen) erfolgt und bei den letzten markierten Stabkernigen nur noch 18 Körnchen beträgt.

3. Segmentkernige neutrophile Granulozyten

a) Erst 14 Stunden später als die Stabkernigen, nämlich in der 108. Stunde erscheinen die ersten markierten Segmentkernigen in der Blutbahn (Tabelle I). Der Markierungsindex (Abb. 5) beträgt zu diesem Zeitpunkt 0,7 %, steigt bis zum 12. Tag (288. Stunde), im Gegensatz zu den anderen Zellen, nur bis auf maximal 92 % an. Danach ebenfalls rascher Abfall der Markierung, wobei zwischen dem 15. und 16. Tag nur noch 50 % der Zellen markiert sind und die letzten markierten Segmentkernigen am 22. Tag zu finden sind.

b) Die Markierungsintensität (Abb. 6) beträgt bei diesen Zellen anfangs 11 Körnchen, steigt zwischen dem 9. und 10. Tag bis auf maximal 25,4 Körnchen an, wird in 152 Stunden halbiert und ist bei den letzten markierten Segmentkernigen nur noch 12,4 Körnchen. Ein biphasischer Verlauf ist bei dieser Zellgruppe nicht festzustellen.

4. Eosinophile Granulozyten

a) Die Eosinophilen sind bei diesem Patienten ab

der 84. Stunde markiert (Tabelle I). Ihr Markierungsindex (Abb. 7) ist zu diesem Zeitpunkt 7,5 %. Er steigt ebenfalls rasch an und erreicht am 10. Tag (240. Stunde) 100 %. Diese maximale Markierung bleibt für ca. 4 Tage mehr oder weniger konstant erhalten und fällt erst ab dem 14. Tag nach Infusionsbeginn wieder deutlich ab. Zwischen dem 19. und 20. Tag (468. Stunde) sind nur noch 50 % der Eosinophilen markiert und nach dem 23. Tag befinden sich keine markierten Eosinophilen mehr in der Blutbahn.

b) Die Markierungsintensität (Abb. 8) beginnt mit 16,6 Körnchen und steigt mit dem Markierungsindex noch nach dem Markierungsende bei leichtem Absinken um die 156. Stunde, bis zum 9. Tag auf 55 Körnchen an. Die Halbierung der mittleren Körnchenzahl erfolgt hier in 120 Stunden. Bei den letzten markierten Eosinophilen findet sich noch eine mittlere Körnchenzahl von 13,3 Körnchen.

II. Patient M.S. (M.S.I)

(Kontinuierliche ^3H -TDR-Applikation über
7 Tage)

Bei diesem Patienten ergibt sich ein prinzipiell ähnlicher Kurvenverlauf wie bei dem Patienten A.R.. Es zeigt sich allerdings (Tabelle I), daß die einzelnen Zellgruppen, mit Ausnahme der Monozyten, 22 Stunden (Stabkernige) und 24 Stunden (Segmentkernige und Eosinophile) früher markiert sind.

I. Monozyten

a) Auch bei diesem Patienten finden sich die ersten markierten Monozyten ab der 24. Stunde nach Infusionsbeginn (Tabelle I). Der Markierungsindex (Abb. 1) beträgt in dieser Stunde bereits 20 %. Der Maximalwert von 100 % wird hier in der 132. Stunde (5 1/2. Tag) erreicht. Mit leichten Schwankungen bleibt diese maximale Markierung für nur kurze Zeit bestehen, um dann ab dem 9. Tag nach Infusionsbeginn wieder allmählich abzufallen. Am 14. Tag sind nur noch 50 % der Zellen markiert und ab dem 23. Tag sind alle markierten Monozyten aus der Blutbahn verschwunden.

b) Die Markierungsintensität (Abb. 2) beträgt zu Beginn 52,9 Körnchen, fällt zwischen dem 3. und 4. Tag auf 43 Körnchen ab und steigt dann ab dem 4. Tag wieder steil an, um kurz vor dem Markierungsende (6. Tag) den höchsten Wert von 106 Körnchen zu erreichen. Mit dem Ende der Applikation fällt die Markierungsintensität wieder ab, wird in 102 Stunden halbiert und beträgt bei den letzten markierten Zellen nur noch 12,5 Körnchen.

2. Stabkernige neutrophile Granulozyten

a) Die Stabkernigen sind bei diesem Patienten schon ab der 72. Stunde (Tabelle I) nach Infusionsbeginn markiert, der Markierungsindex (Abb. 3) beträgt zu diesem Zeitpunkt 3,3 %. Es folgt auch hier ein rascher Anstieg der Markierung, der am 8. Tag (192. Stunde) mit 100 % endet. Diese höchste Markierung bleibt dann für 4 Tage, bis

zum 14. Tag bestehen und fällt danach wieder deutlich ab, so daß zwischen dem 15. und 16. Tag (372. Stunde) nur noch 50 % der Stabkernigen markiert sind. Die letzten markierten Stabkernigen befinden sich am 20. Tag in der Blutbahn.

b) Bei der Untersuchung der Markierungsintensität (Abb. 4) zeigt sich ein biphasischer Verlauf. Dem anfänglichen steilen Anstieg der Markierungsintensität folgt zwischen dem 5. und 7. Tag ein deutliches Absinken, danach kommt es zu einem zweiten Anstieg der Intensität der seinen Gipfel mit 71,4 Körnchen kurz nach dem Markierungsende erreicht. Erst danach beginnt ein kontinuierliches Absinken, wobei eine Halbierung der Markierungsintensität in der 105. Stunde erfolgt und bei den letzten markierten Zellen noch eine mittlere Körnchenzahl von 14 erreicht wird.

3. Segmentkernige neutrophile Granulozyten

a) Die ersten markierten Segmentkernigen werden bei diesem Patienten schon in der 84. Stunde nach Infusionsbeginn gefunden (Tabelle I). Ihr Markierungsindex (Abb. 5) beträgt zu diesem Zeitpunkt 1,4 %, steigt in den folgenden 3 1/2 Tagen rasch an und erreicht am 8. Tag (192. Stunde) 100%. Diese Höchstmarkierung bleibt nun mit kleinen Schwankungen für ca. 4 Tage bestehen und sinkt zwischen dem 13. und 14. Tag wieder ab. Bis zum 17. Tag (408. Stunde) sind nur noch 50 % der Zellen markiert. Die Elimination aller markierten Segmentkernigen erfolgt bis zum 24. Tag.

b) Die Markierungsintensität (Abb. 6) beträgt am Anfang 29,5, sinkt dann wieder leicht ab, um dann in einem anschließenden steilen Anstieg bis zum 9. Tag den höchsten Wert von 64,5 Körnchen zu erreichen. Eine Halbierung der Markierungsintensität erfolgt in 130 Stunden. Bei den letzten markierten Segmentkernigen beträgt die mittlere Körnchenzahl noch 14,7 Körnchen je Zellkern.

4. Eosinophile Granulozyten

a) Auch der Markierungsverlauf dieser Zellgruppe verhält sich ähnlich wie bei dem Patienten A.R. (Abb. 7). Die ersten markierten eosinophilen Zellen sind allerdings hier schon in der 60. Stunde zu finden (Tabelle I). Der Markierungsindex (Abb. 7) beträgt zu diesem Zeitpunkt 1,2 % und steigt bis zum 13. Tag (312. Stunde) auf den Maximalwert von 100 % an. Dieser Höchstwert bleibt aber hier nicht plateauartig für einige Tage bestehen, sondern wird schon zwischen dem 13. und 14. Tag deutlich unterschritten. Die Verminderung der markierten Zellen setzt sich dann allmählich fort, so daß am 22. Tag nur noch 50 % der Zellen markiert sind und ab dem 34. Tag keine markierten Eosinophilen mehr zu finden sind.

b) Die Markierungsintensität (Abb. 8) liegt hier anfangs bei 32 Körnchen, erreicht nach kurzem Absinken am 9. Tag den höchsten Wert von 113 Körnchen und wird in 1 $\frac{1}{4}$ Stunden (6 Tage) halbiert. Die letzten markierten Eosinophilen haben noch eine Markierungsintensität von 15,5 Körnchen.

Das Phänomen des biphasischen Verlaufs der Markierungsintensität konnte bei den Monozyten (Abb. 2) (Pat. A.R. und M.S.) am deutlichsten beobachtet werden. Bei den übrigen Zellgruppen, bei A.R. und M.S. ließ sich der biphasische Ablauf nur andeutungsweise separieren. Bei den segmentkernigen neutrophilen Granulozyten (Pat. A.R.) zeigte sich, bei niedrigem Markierungsintensitäts-Niveau ein deutlicher monophasischer Ablauf.

III. Patient M.S. (M.S. II)

(Kontrolluntersuchung nach Therapie mit
³H-TDR-Applikation über 24 Stunden)

Bei der zweiten Untersuchung des Patienten M.S. ergibt sich im Prinzip ein ähnlicher Kurvenverlauf wie bei der ersten Untersuchung.

Die ersten markierten Zellen erscheinen zum gleichen Zeitpunkt wie bei der ersten Untersuchung. (Tabelle I). Allerdings wird, entsprechend der kürzeren Applikationszeit bei keiner Zellgruppe eine 100 %igen Markierung erreicht (Abb. 9).

1. Monozyten

a) Auch bei dieser Untersuchung sind die Monozyten ab der 24. Stunde markiert (Tabelle I). Der Markierungsindex (Abb. 9) beträgt zu dieser Stunde 12,2 %, steigt dann ebenfalls rasch an und erreicht am 3. Tag (72. Stunde) mit 69,8 % seinen Maximalwert. Danach beginnt ein sofortiger Abfall des Markierungsindex, so daß am 5. Tag

(120. Stunde) mit 34,5 % nur noch ca. 50 % der höchsten Markierung vorhanden ist. Die letzten markierten Monozyten finden sich bei dieser Untersuchung am 13. Tag (312. Stunde) nach Infusionsbeginn.

b) Die Markierungsintensität (Abb. 2) ist bei dieser Untersuchung bei den Monozyten in der 24. Stunde 31,3 Körnchen, sie erreicht in der 60. Stunde noch vor der höchsten Markierung den Maximalwert von 49,6 Körnchen. Die Halbierung der mittleren Körnchenzahl erfolgt in 86 Stunden und bei den letzten markierten Zellen dieser Gruppe beträgt sie noch 16 Körnchen.

2. Stabkernige neutrophile Granulozyten

a) Auch hier sind die ersten markierten Zellen in der 70. Stunde zu finden (Tabelle I). Der Markierungsindex (Abb. 9) ist in dieser Stunde 3,3 %, erreicht am 5. Tag (180. Stunde) den Höchstwert mit 57,5 % und fällt anschließend bis zum 10. Tag (240. Stunde) wieder auf nur noch ca. 50 % dieses Maximalwertes ab. Die markierten Zellen verbleiben noch bis zum 19. Tag (456. Stunde) in der Blutbahn.

b) Die Markierungsintensität (Abb. 4) liegt hier am Anfang bei 15 Körnchen, erreicht mit 27,7 Körnchen am 6. Tag (144. Stunde) den höchsten Wert und wird in 120 Stunden halbiert. Die letzten markierten Stabkernigen haben noch eine Markierungsintensität von 14 Körnchen.

3. Segmentkernige neutrophile Granulozyten

a) Wie schon bei der ersten Untersuchung (M.S.I) (Abb. 5) erscheinen auch hier die ersten markierten Segmentkernigen in der 84. Stunde nach Markierungsbeginn (Tabelle I). Der Markierungsverlauf beginnt hier mit einem Markierungsindex (Abb. 9) von 2,8 %, erreicht am 7. Tag (168. Stunde) den höchsten Wert mit 57 % und fällt dann bis zum 11. Tag (264. Stunde) wieder auf einen Anteil von 26 % ab. Bis zum 20. Tag werden hier alle markierten Zellen aus der Blutbahn eliminiert.

b) Die Markierungsintensität (Abb. 6) beginnt hier mit dem Maximalwert von 28,5 Körnchen und nimmt dann in einem unruhigen Verlauf allmählich ab, so daß bei den letzten markierten Segmentkernigen nur noch eine mittlere Körnchenzahl von 13,3 Körnchen zu finden ist. Die Halbierung erfolgt in 130 Stunden.

4. Eosinophile Granulozyten

a) Auch bei dieser Zellgruppe erscheinen die ersten markierten Zellen zur selben Stunde wie bei der vorangegangenen Untersuchung (M.S. I), nämlich in der 60. Stunde (Tabelle I). Der Markierungsindex (Abb. 9) beträgt hier allerdings nur 1 %. Dem raschen Anstieg der Markiertenzahl bis zu maximal 59 % am 4. Tag (132. Stunde) folgt ein sofortiger Abfall, so daß am 12. Tag (288. Stunde) nur noch 27,2 % der Eosinophilen markiert sind und bis zum 21. Tag nach Infusionsbeginn

alle markierten Zellen aus der Blutbahn eliminiert sind.

b) Wie auch schon bei den Segmentkernigen zu beobachten war (Abb. 6), haben auch hier die ersten markierten Zellen die höchste mittlere Körnchenzahl. Somit beginnt hier die Markierungsintensität (Abb. 8) mit dem maximalen Wert von 78 Körnchen, nimmt dann bei unruhigem Verlauf kontinuierlich ab und wird in 110 Stunden halbiert. Bei den letzten markierten Eosinophilen beträgt die Markierungsintensität nur noch 13 Körnchen.

Zeichenerklärung:

% = Prozentsatz der markierten Zellen
 = Markierungsindex.

MKZ = mittlere Körnchenzahl = Markierungsintensität

M.S. I = 1. Untersuchung bei dem Pat. M.S.

M.S.II = 2. Untersuchung bei dem Pat. M.S.

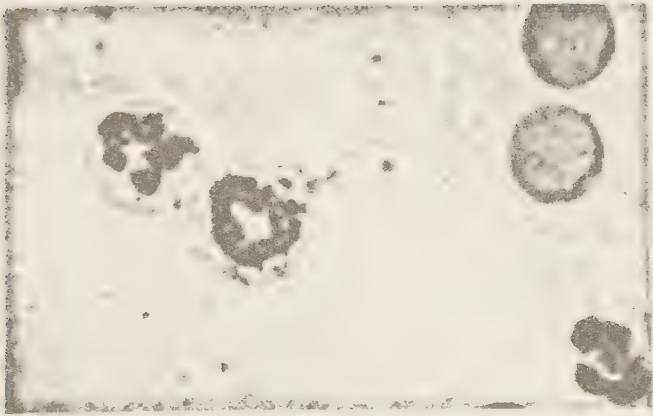


Foto a); zeigt in der Mitte links einen markierten Stabkernigen, rechts unten, sowie links oben jeweils einen markierten Segmentkernigen. Rechts sind zwei unmarkierte Lymphozyten dargestellt.

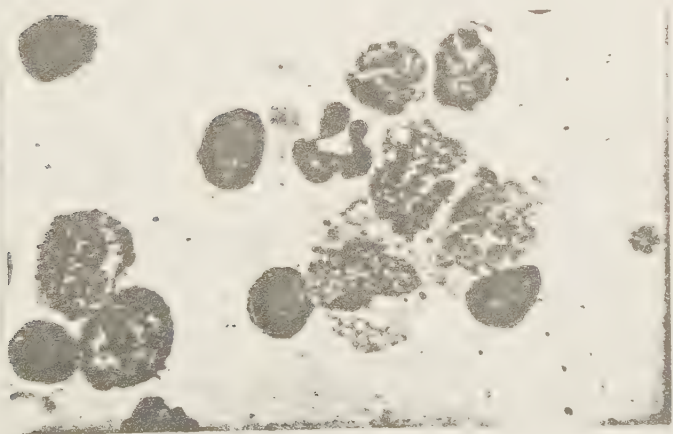


Foto b); zeigt rechts in der Mitte drei markierte Monozyten. Die beiden markierten Zellen links unten gehören zur lymphatischen Zellreihe.

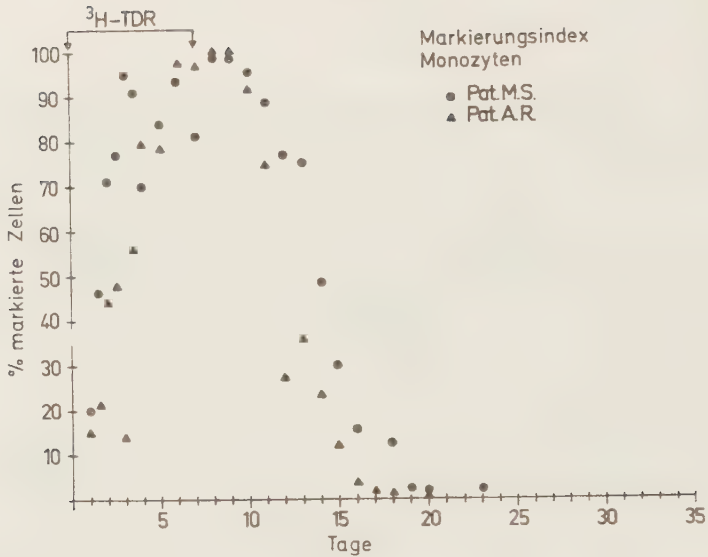


Abb. 1 Markierungsindex der Monozyten nach 7-tägiger Dauerapplikation von ^3H -TDR Patient A.R. und M.S.

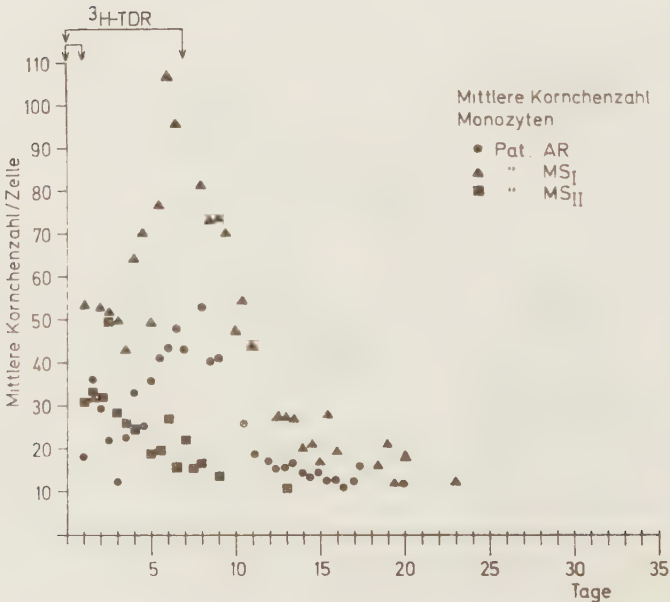


Abb. 2 Mittlere Körnchenzahl der Monozyten bei 7-tägiger und 24-stündiger ^3H -TDR-Infusion Patient A.R., M.S.I und M.S.II

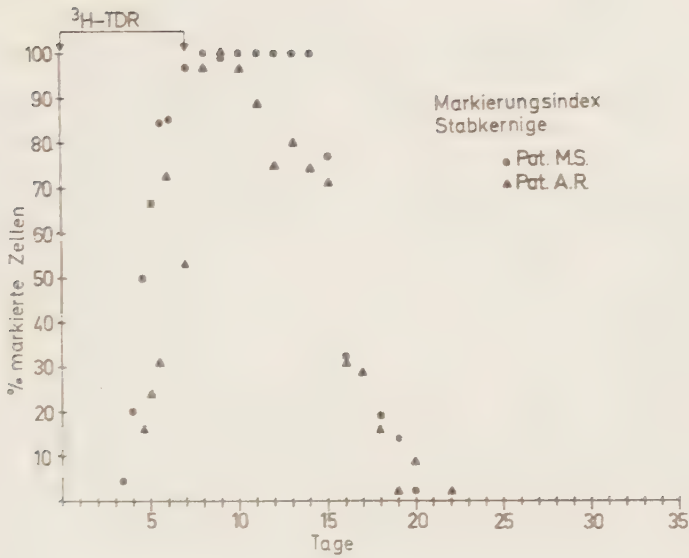


Abb. 3 Markierungsindex der Stabkernigen nach 7-tägiger Dauerapplikation von ^3H -TDR Pat. A.R. und M.S.I

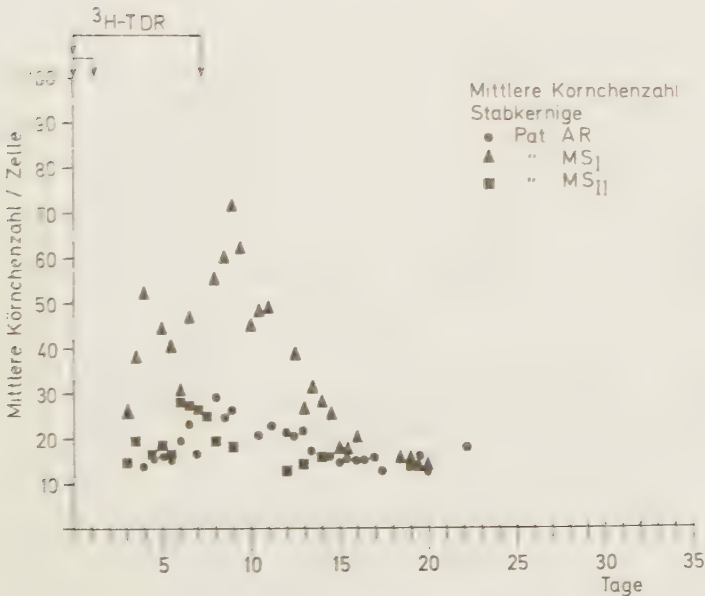


Abb. 4 Mittlere Körnchenzahl der Stabkernigen bei 7-tägiger und 24-stündiger ^3H -TDR-Infusion Pat. A.R., M.S.I und M.S.II

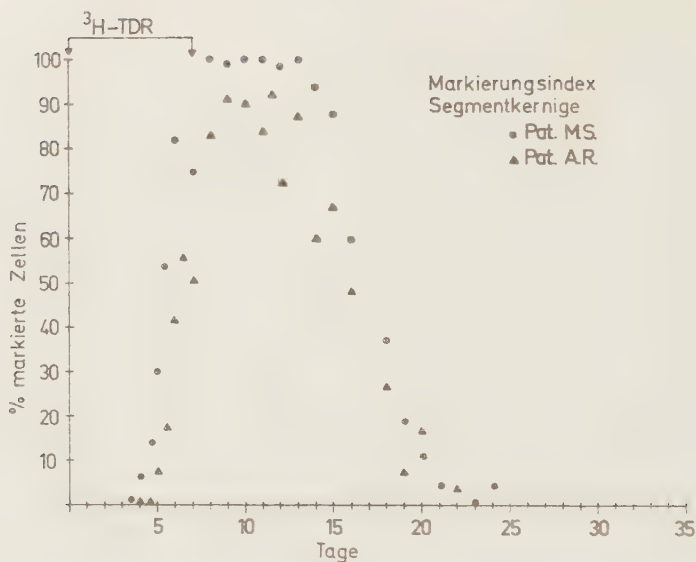


Abb. 5 Markierungsindex der Segmentkernigen nach 7-tägiger Dauerapplikation von ^3H -TDR Pat. A.R. und M.S.I

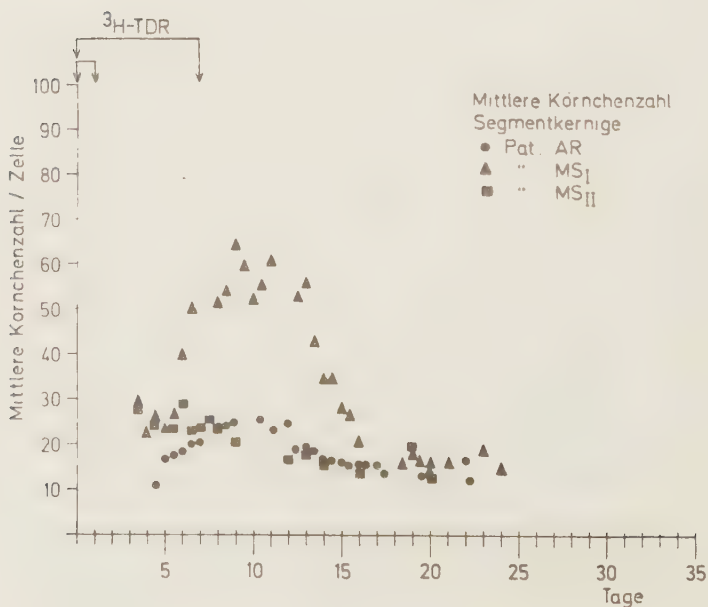


Abb. 6 Mittlere Körnchenzahl der Segmentkernigen bei 7-tägiger und 24-stündiger ^3H -TDR-Infusion Pat. A.R., M.S.I und M.S.II

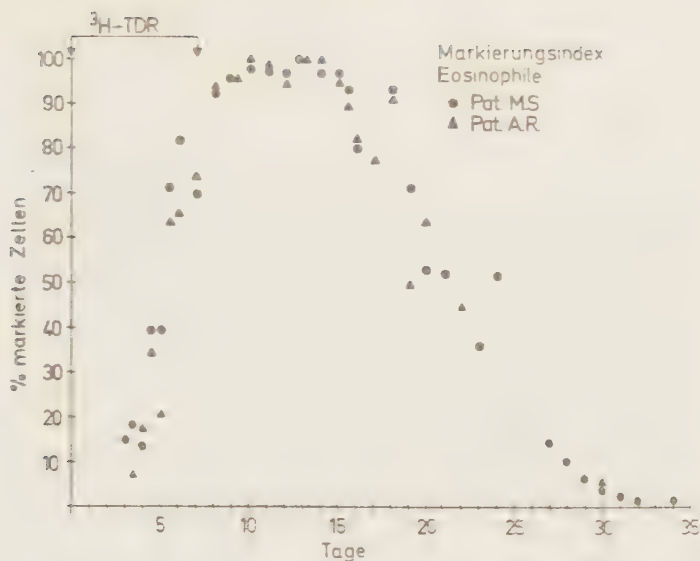


Abb. 7 Markierungsindex der Eosinophilen nach 7-tägiger Dauerapplikation von ^3H -TDR Pat. A.R. und M.S.

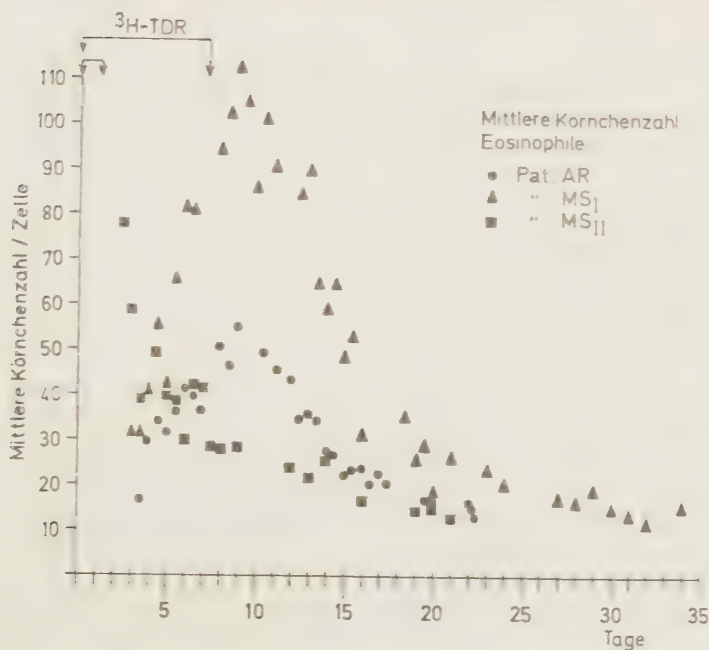


Abb. 8 Mittlere Körnchenzahl der Eosinophilen bei 7-tägiger und 24-stündiger ^3H -TDR-Infusion Pat. A.R., M.S.I und M.S.II

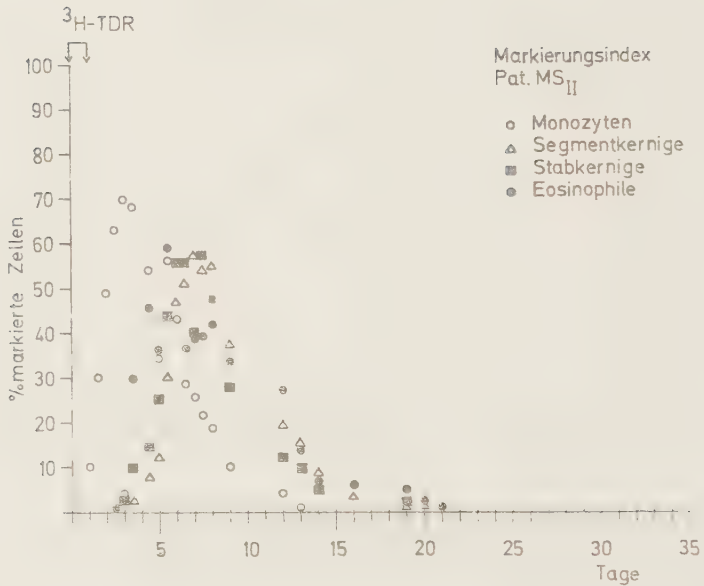


Abb. 9 Markierungsindex der Monozyten, Stabkernigen, Segmentkernigen und Eosinophilen Pat. M.S. nach 24-stündiger $^3\text{H-TDR}$ -Infusion (M.S.II)

D. Diskussion

I. Voraussetzung bei kontinuierlicher Markierung

Die dargestellten Phänomene müssen unter folgenden grundsätzlichen Voraussetzungen diskutiert werden:

1. Während der Untersuchung bestand keine Expansion der jeweiligen Zellproduktion; soweit dies an der Konstanz der Blutbildwerte ablesbar ist. Somit kann von einem "steady state" im Sinne eines Fließgleichgewichtes gesprochen werden.

2. Während der Applikation des Isotops wurde jede in die DNS-Phase eintretende und jede aus der Mitose hervorgehende = neugebildete Zelle markiert.

Bei unseren in-vitro-Ansätzen, die den vivo-Markierungen vorausgingen, fanden sich keine der beschriebenen Zellen nach dreistündiger Inkubation in ^3H -TDR markiert. Zudem belegt die Latenzzeit vom Beginn der hochdosierten Initial-Flashmarkierung bis zum Auftreten der ersten markierten Zellen, daß für alle untersuchten Zelltypen die Markierung "passiv", d.H., durch den Einbau des Radionucleosids in der S-Phase der Vorläuferzellen erfolgt (23,66).

3. Bei den bisherigen Untersuchungen mit ^3H -TDR wurden keine zytotoxischen Veränderungen gefunden (24). Es kann also davon ausgegangen werden, daß bei den hier verwendeten Dosen keine Schädigung des Organismus erfolgt, zumal bei Experimenten mit ^3H -TDR an Ratten, mit einer zwölfmal höheren Dosis, wie die hier verwendete, kein nachweisbarer Effekt auf die Zellentwicklung festgestellt werden konnte.

4. Nach Beendigung der exogenen ^3H -TDR-Zufuhr ist das tritiierte Nucleosid, wegen raschem Katabolismus und rascher Ausscheidung durchschnittlich nur noch 1 Stunde verfügbar (CLEAVER (14)). Ein weiterer Anstieg des Markierungsindex eines Zelltyps wäre demnach auf Teilung oder Transformation vorher markierter Vorläuferzellen zurückzuführen.

5. Die die kinetische Interpretation oft sehr störende Reutilisation von ^3H -Thymidin markierten DNS-Fragmente, spielt während der ^3H -TDR-Infusion im Vergleich zum exogenen Angebot keine Rolle; auch später scheint dieser Faktor hier unbedeutend zu sein, denn: a) für reife myeloische Zellen gilt speziell, daß sie die Markierung über die Vorläuferzellen erhalten, so daß bei einer Reutilisationsmarkierung durch die nachfolgende Halbierung eine Verdünnung in den background-Bereich erfolgen würde, zumal der background, trotz optimaler Autoradiographie, relativ hoch angesetzt wurde. b) Der identische Kurvenverlauf bei M.S. mit und bei A.R. ohne kaltem Thymidin spricht ebenfalls gegen nennenswerte Reutilisation von DNS-Fragmenten.

II. Diskussion der über die verschiedenen Zelltypen durch kontinuierliche Markierung gewonnenen Daten.

+))

1. Die Monozyten (Abb. 1,2,10,11)

a) Das Erscheinen der ersten markierten Zellen nach 24 Stunden (Abb. 1) in allen 3 Ansätzen entspricht der sogen. "Ausreifungszeit". Sie muß das Ende der

+) Im folgenden wird als 1. Wert jeweils der von Pat. A.R. und als 2. der von Pat. M.S. I angegeben.

letzten S-Phase in der Vorläuferzelle, ihre G2- und M-Phase sowie eine evtl. Ausreifung und die Ausschwemmung des markierten Teilungsproduktes umfassen.

Der sehr kurz anmutende Zeitraum von 24 Stunden und der zu diesem Zeitpunkt bereits erreichte relativ hohe Anteil markierter Monozyten weist darauf hin, daß kaum mehr als ein Teilungsschritt vor der Ausschwemmung dieser markierten Zellen liegen kann.

Das entspricht den Angaben von WHITELOW (66) und FLIEDNER (23), wonach ohne weitere Ausreifungszeit eine Entlassung der Monozyten aus dem Blut direkt nach Teilung des reifsten teilungsfähigen Praecursors erfolgt. Ebenso gibt MEURET (47) das Fehlen eines Reifungsspeichers für die Monozyten an. Der bei uns gefundene Wert von 24 Stunden ist kürzer als der von MEURET (47) mit 54 Stunden angegebene.

b) Der Zeitpunkt der 100 %igen Markierung wird in steilem, nur angedeutet S-förmigem Anstieg nach 192 bzw. 132 Stunden erreicht. Da dies während und nur kurz nach der ^3H -Thymidin-Verabfolgung ist, werden offenbar nur markierte Zellen in die Blutbahn abgegeben. Somit ergibt die Akkumulationsrate markierter Monozyten im Blut eine Neubildungsrate dieser Zellen im intravasalen Bereich, bzw. ihre Einstromrate von 0,52 bzw. 0,75 % pro Stunde. In dieser Größenordnung liegt die Einstromrate bei Normalpatienten WHITELOW's (40) mit 1 % pro Stunde und die bei FLIEDNER (15) mit 0,7 bis 1,5 % je Stunde. Weiterhin ergibt sich aus dem Zeitpunkt

100 %iger Markierung abzüglich der Ersterscheinungszeit (24 Stunden) eine maximale Umsatzzeit der intravasalen Monozyten von 168 bzw. 108 Stunden. Aus den Einstromraten, wie sie bei WHITELAW (66) angegeben sind, ergäbe sich eine maximale Umsatzzeit der Monozyten bei Patienten ohne hämatologische Erkrankung von etwa 100 Stunden und aus den Werten von FLIEDNER (23) ergibt sich eine maximale Umsatzzeit, die zwischen 72 und 144 Stunden liegt.

c) Die Dauer der 100 %igen Markierung nach Ende der ^3H -TDR-Applikation kann als Maß für die durchschnittliche Durchgangszeit durch das teilungsfähige Zellkompartiment benutzt werden. Da zum Ende der Isotopen-Infusion die Stufen aller Vorläuferzellen markiert sind, wird die erste unmarkierte Zelle erst abgegeben und die 100 %ige Markierungsintensität beginnt erst dann zu sinken, wenn die erste unreife, unmarkierte Vorläuferzelle durch sämtliche Reifungsteilungen gegangen ist und ihr Endprodukt in die Strombahn entläßt.

Dieser Zeitraum betrüge hier für die Monopoese 24 bzw. 48 Stunden. Dies entspricht den Angaben über ein geringstufiges Vorläuferkompartiment bei Monozyten (23, 47, 66).

d) Der prozentuale Verlauf unmarkierter Zellen (Abb. 10 - 13) wurde als Komplementärkurve zum Anstieg markierter Monozyten semilogarithmisch in Abbildung 10 dargestellt. Aus der Steilheit der durch diese Werte gelegten Tangente resultiert die jeweilige Halbwertszeit ($T/2$) (Abb. 10 - 13)

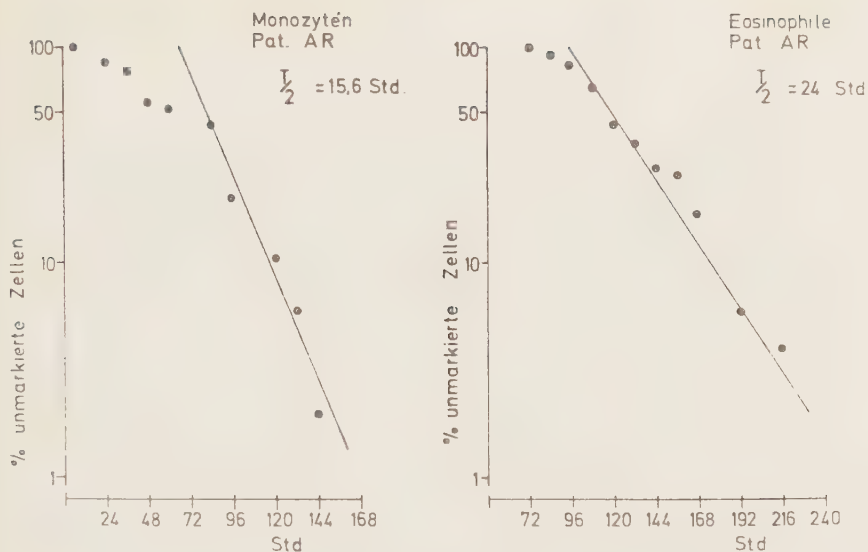


Abb. 10 Prozentsatz, unmarkierte Monozyten und Eosinophile (semilogarithmische Skala) $T/2$ =Halbwertszeit, Pat. A.R.

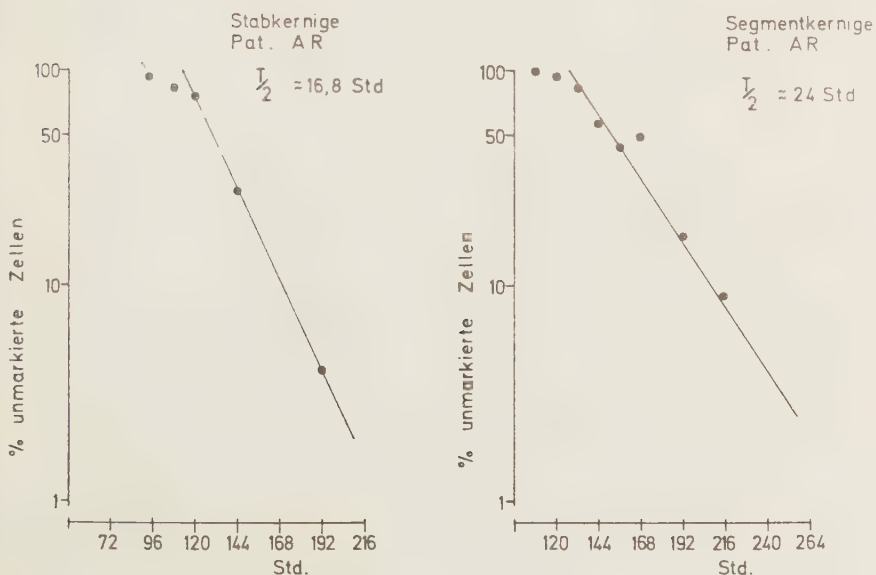


Abb. 11 Prozentsatz, unmarkierte Stab- und Segmentkernige (semilogarithmische Skala) $T/2$ =Halbwertszeit, Pat. A.R.

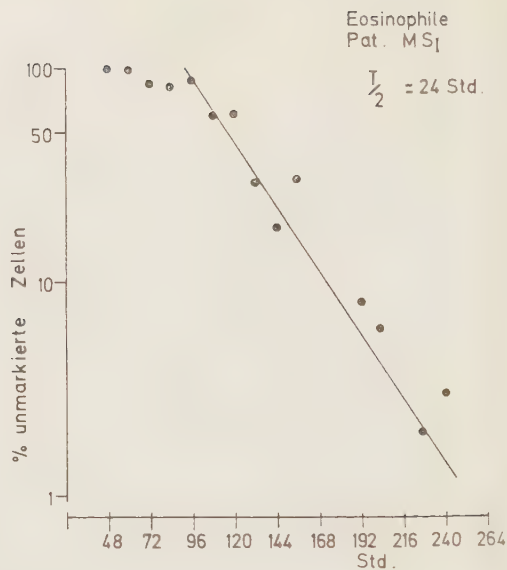
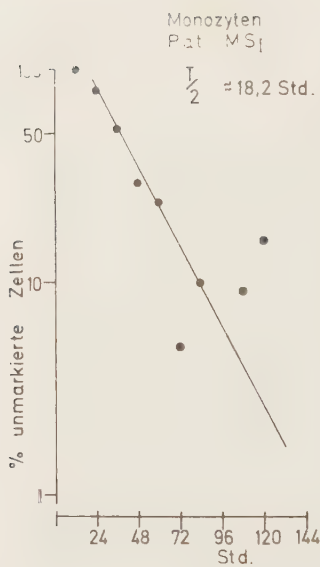


Abb. 12 Prozentsatz, unmarkierte Monozyten und Eosinophile (semilogarithmische Skala) $T/2$ =Halbwertszeit, Pat. M.S.I

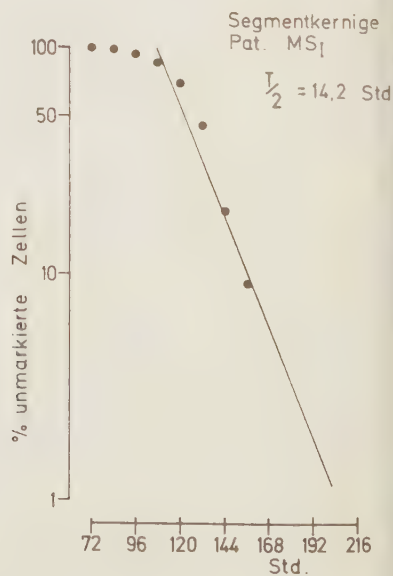
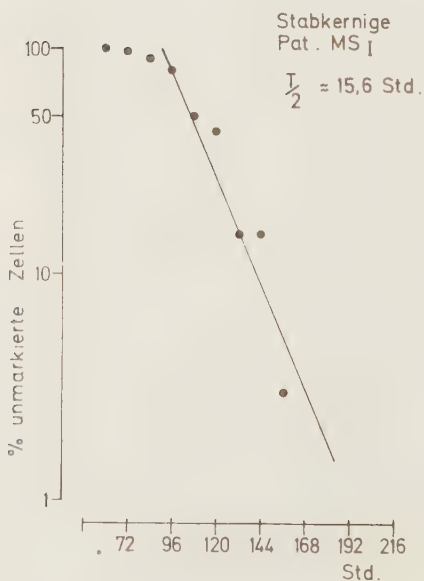


Abb. 13 Prozentsatz, unmarkierte Stab- und Segmentkernige (semilogarithmische Skala) $T/2$ =Halbwertszeit, Pat. M.S.I

der Zellpopulation im Blut (34). Die so gefundene Halbwertszeit der Monozyten liegt bei 15,6 bzw. 18,2 Stunden. Von diesem Wert aus läßt sich die mittlere intravasale Durchgangszeit oder Transitzeit durch Division durch $\ln 2 = 0,693$ kalkulieren (34). Es errechnet sich somit ein Wert von 22,5 bzw. 26 Stunden. An vergleichbaren Normaldaten findet sich hier lediglich bei MEURET (47) ein aus einer T/2-Zeit von 8,4 Stunden auf 12 Stunden zu veranschlagender Wert, der somit deutlich kürzer wäre als der von uns ermittelte.

e) Der Verlauf der Markierungsintensität (Abb. 2) zeigte einen Abfall bis zum 3. Tag und danach linearen Anstieg während der Markierungsdauer. Wenn am Anfang höher markierte Zellen als am 3. Tag vorliegen, so ist dies mit einer einfachen kontinuierlichen Markierung schwer erklärlich. Zur Bestimmung der Wachstumsfraktion in den Produktionsstätten wird jedoch ein initialer flash mit der Hälfte der späteren Tagesgesamtdosis verabfolgt (62). Die zu diesem Zeitpunkt in der S-Phase befindlichen Zellen erhielten also eine entsprechend höhere Markierungsintensität als während der abschließenden kontinuierlichen Markierung und geben sie dann an ihre peripher erscheinenden Folgezellen weiter, so daß eine zunehmende Verdünnung der flash-Markierungsintensität erfolgt. Das dadurch resultierende Absinken der mittleren Körnchenzahl wird von der bei jedem Durchgang durch diese Phase zusätzlich akkumulierenden Markierung, unter der Dauerinfusion überlagert.

Dies führt schließlich (ab der 72. Stunde) zu einem linearen Anstieg der Markierungsintensität bis zum Ende der ^3H -TDR-Dauerinfusion und dann zu einem sofortigen ebenso steilen Absinken nach ihrem Ende.

Die Halbierungszeit der mittleren Markierungsintensität wird von CRONKITE (19) auf Grund kinetisch-statistischer Überlegungen zur Kalkulation der Generationszeit, d.h., in der Zeit von einer Mitose des Praekursors bis zur nächsten, herangezogen. Sie ist demnach über die Monozyten unserer Patienten 112 bzw. 102 Stunden.

f) Die Gesamtproduktionsrate der Monozyten: Diese läßt sich über die oben errechnete mittlere intravasculäre Durchgangszeit oder Transitzeit der Monozyten kalkulieren. Bei einer durchschnittlichen Anzahl von 1476 bzw. 1170 Monozyten in 1mm^3 Blut mit einer Transitzeit von 23 bzw. 26 Stunden errechnet sich ein Einstrom von 64 bzw. 45 Monozyten pro mm^3 und Stunde. Hierbei ergibt sich bei einem Blutvolumen von 4,5 l in absoluten Werten ein Einstrom von 29×10^7 bzw. 20×10^7 Monozyten pro Stunde und bezogen auf das Körpergewicht $0,48 \times 10^7$ bzw. $0,33 \times 10^7$ Zellen pro Kg und Stunde. In vergleichbarer Größenordnung liegt bei MEURET (47) die Blutbildungsrate für Monozyten im Knochenmark mit $0,72 \times 10^7$ Zellen pro Kg Körpergewicht und Stunde.

2. Die stabkernigen Granulozyten (Abb. 3,4,12,13)

a) Das erste Erscheinen der ersten markierten Zellen dieser Gruppe (Abb. 3) in der 93. bzw. 72. Stunde entspricht auch hier einer minimalen Ausreifungszeit, die vom Ende der letzten S-Phase des letzten teilungsfähigen Vorläufers, also der der Myelozyten anzusehen wäre (Übersicht bei FLIEDNER (26)). Die menschlichen Normalwerte für diesen Reifungsablauf beziehen sich meist auf die Segmentkernigen und werden mit 3,5 - 4 Tage angegeben (19). Zieht man davon eine Ausreifungszeit von 12 - 24 Stunden vom Stabkernigen zum Segmentkernigen ab, so liegt der hier angegebene Wert für das Ersterscheinen Stabkerniger in der Größenordnung des Normalbereichs (19).

b) Der Zeitpunkt der 100 %igen Markierung in der 216. bzw. 192. Stunde ermöglicht durch Abzug der Ersterscheinungszeit den Schluß auf eine maximale Umsatzzeit von 122 bzw. 120 Stunden.

c) Die Dauer der 100 %igen Markierung nach dem Ende der Thymidin-Infusion scheint bei A.R. mit 12 Stunden gegenüber M.S. mit 144 Stunden nicht bewertbar, da sich, wie Abb. 4 zeigt, bei A.R. eine weit niedrigere Markierungsintensität fand und so ein artefizielles Absinken mancher Zellen in den background-Bereich möglich ist. Die für M.S. gefundene Zeit als Maß für die Durchgangszeit durch den Proliferationsspeicher entspricht genau dem Wert von 6 Tagen, den FLIEDNER (26) angibt und dem

Durchschnittswert von 157 Stunden bei CRONKITE und FLIEDNER (19).

d) Der prozentuale Verlauf unmarkierter Zellen (Abb. 12 und 13) ergibt eine Halbwertszeit der Stabkernigen im Blut von 16,8 bzw. 15,6 Stunden. Nach dem oben gezeigten Modus errechnet sich hieraus eine mittlere intravasale Transitzeit von 24,3 bzw. 22,5 Stunden. In den flash-Markierungsuntersuchungen von FLIEDNER (16,17,18,19) und CRONKITE und FLIEDNER (24,25,26) wird ebenfalls eine Transitzeit von 24 - 48 Stunden angegeben.

e) Im Verlauf der Markierungsintensität (Abb. 4) fiel bei M.S. ein steiles Absinken vom 4. Tag an und ein erneuter Anstieg nach dem 6. Tag auf. Dies läßt sich auch hier als Auswirkung der hochkonzentrierten initialen flash-Markierung, wie bei den Monozyten diskutiert, erklären. Daß sich ein ähnliches Phänomen bei A.R. nicht so deutlich darstellte, könnte mit der insgesamt niedrigeren Markierungsintensität in diesem Falle zu erklären sein.

Die Halbwertszeit der mittleren Markierungsintensität mit 167 bzw. 105 Stunden ist ein Anhalt für die Länge der Generationszeit. Dabei dürfte der letztere Wert für M.S. besser zu bewerten sein, da er sich auf einem höheren Intensitätsniveau ergibt und er daher weniger mit der Beeinflussung durch Artefakte zu rechnen ist als bei A.R.

f) Für die stabkernigen neutrophilen Granulozyten läßt sich unter Berücksichtigung der mittleren intravasculären Durchgangszeit oder Transitzeit,

ebenfalls die Gesamtproduktionsrate dieser Zellgruppe kalkulieren. Bei einer absoluten Anzahl von 738 bzw. 1040 Stabkernigen pro mm^3 Blut und einer Transitzeit von 24,3 bzw. 22,5 Stunden ergibt sich ein Einstrom von 30 bzw. 46 Stabkernigen pro mm^3 und Stunde. Auf das Blutvolumen bezogen errechnet sich so ein Einstrom von $13,5 \times 10^7$ bzw. 21×10^7 Zellen pro Stunde. Rechnet man diese Werte noch auf das Körpergewicht bezogen um, so kalkuliert sich eine Blutbildungsrate von $0,22 \times 10^7$ bzw. $0,35 \times 10^7$ Zellen pro Kg Körpergewicht und Stunde.

3. Die segmentkernigen neutrophilen Granulozyten (Abb. 5,6,12,13)

a) Das Ersterscheinen markierter Segmentkerniger (Abb. 5) zeigte eine Ausreifungszeit von 108 bzw. 84 Stunden an. Dies liegt, wie gezeigt, in der Größenordnung der 3,5 bis 4 Tage, die FLIEDNER und CRONKITE (16,17,18,19) für Normalpersonen fanden. Die Differenz zwischen Ersterscheinen von Stabkernigen und dem der Segmentkernigen (108 bis 94 Stunden) bzw. (84 bis 72 Stunden) von 12 Stunden ist als Ausreifungszeit vom Stab- zum Segmentkernigen zu deuten und entspricht ebenfalls dem Normalbereich von 12 - 24 Stunden (16,17,18,19).

b) Der Zeitpunkt der 100 %igen Markierung ist nur bei M.S. mit 192 Stunden meßbar, da bei A.R. durch ungünstige background-Markierung niedrigere Mar-

kierungsintensität nur maximal 92 % in der 215. Stunde als sicher markiert angesehen werden konnten. Durch Abzug der Ersterscheinungszeit ergibt sich für M.S. eine maximale Umsatzzeit von 108 Stunden.

Vergleichbare normale menschliche Daten mit Dauermarkierung liegen nicht vor. Nach flash-Markierung sahen aber PERRY (53), BOGGS (7), FLIEDNER (24,25,26,) und ZIMMERMANN (66) ebenfalls den Aktionsgipfel für segmentkernige Granulozyten am 7. und 9. Tag. OHARA (50) führte, ebenfalls wie in unserem Ansatz eine 7-tägige Markierung an einem Patienten mit einem Retothel-Sarkom durch und erreichte dabei ebenfalls eine 100 %ige Markierung der Segmentkernigen am 8. Tag. Bei CLL-Patienten fand ZIMMERMANN (67) nach flash-Markierung ebenfalls eine maximale Markierung der Segmentkernigen nach 144 bis 192 Stunden.

c) Die Dauer der 100 %igen Markierung bei M.S. 120 Stunden kann als Maß für die Durchgangszeit durch den Proliferationsspeicher betrachtet werden. Sie ist damit fast indentisch mit dem Wert wie er bei Stabkernigen gefunden wurde. Bei der geringen Ausreifungszeit zwischen beiden Zelltypen fallen die zu bewertenden Unterschiede in die Größenordnung der Blutabnahmezeiten im Untersuchungsgang. Der Wert von 120 Stunden liegt ebenfalls im Bereich der von CRONKITE und FLIEDNER (16,17,18,19) angegebenen 87 bis 228 Stunden mit einem Durchschnittswert bei 157 Stunden für die Durchgangszeit durch den Proliferationsspeicher.

d) Der prozentuale Verlauf unmarkierter Zellen (Abb. 12 und 13) ergibt eine Halbwertszeit von 24 bzw. 14,2 Stunden. Daraus errechnet sich eine mittlere intravasale Transitzeit von 34,5 bzw. 20,5 Stunden. Die Untersuchung von FLIEDNER et al. (26) und GERECKE et al. (33) zeigen, daß die Emigration der Granulozyten vor allem nach statistischer Zufälligkeit als "Random Loss" und nicht nach Altersreifung erfolgt. Obige Werte für die intravasale Transitzeit liegen deutlich über den Normaldaten, die mit DFP³² Markierung durch MAUER (45) und MEURET (47) mit durchschnittlich 7 Stunden gefunden wurden. Methodisch vergleichbar sind nur die Dauermarkierungen an Ratten von GERECKE et al. (33,34), die ebenfalls eine deutliche kürzere Transitzeit von 9-12,5 Stunden ergaben.

e) Der Verlauf der Markierungsintensität (Abb. 6) zeigt in seinem Ablauf ein den Stabkernigen sehr ähnliches Muster. Bei dem Patienten M.S. zeigt sich ein andeutungsweises zwischenzeitiges Absinken, das auf einen nachklingenden flash-Effekt zurückzuführen ist. Dieser Nachklingeffekt wurde bei den Monozyten bereits ausführlich besprochen. Bei dem Patienten A.R. kam es auf Grund des niedrigeren Intensitätsniveaus nicht zu einem biphasischen Ablauf. Die Halbwertszeit der mittleren Markierungsintensität als Maß der Generationszeit liegt bei 152 bzw. 130 Stunden.

f) Die Produktionsrate der segmentkernigen neutrophilen Granulozyten errechnet sich bei der un-

ter d) angegebenen intravasalen Transitzeit von 34,5 bzw. 20,5 Stunden und einer zirkulierenden Anzahl Segmentkerniger von $4428/\text{mm}^3$ bzw. 5720 über eine daraus resultierende Einstromrate neu-gebildeter segmentkerniger Granulozyten von $127/\text{mm}^3$ und Stunde bzw. bei $180/\text{mm}^3$ und Stunde. Bei einem Blutvolumen von 4,5 Liter resultiert in absoluten Werten ein Einstrom von 57×10^7 bzw. 126×10^7 . Bezogen auf das Körpergewicht errechnet sich so ein Blutgranulozyteneinstrom von $1,1 \times 10^7$ pro Kg und Stunde bzw. $2,1 \times 10^7$ pro Kg und Stunde. Berücksichtigt man mit BISHOP (6), daß der zirkulierende Granulozytenpool im Vergleich zum totalen Granulozytenpool nur $44/100$ beträgt, so ergäbe sich für den Gesamtumsatz durch Multiplikation mit dem Faktor 100 durch 44 eine Produktionsrate von $2,5 \times 10^7$ pro Kg und Stunde bzw. $4,8 \times 10^7$ pro Kg und Stunde. Für Normalpersonen kalkuliert sich nach dem Ergebnis von BISHOP (6), CARTWRIGHT (11) und MEURET (46) der Gesamtumsatz auf 3,2 bis $7,4 \times 10^7$ segmentkernige Zellen pro Kg Körpergewicht und Stunde. Demnach läge die für A.R. gefundene Produktionsrate knapp unterhalb der Norm und die für M.S. im Normbereich.

4. Die eosinophilen Granulozyten (Abb.7,8,10,11)

a) Aus den Erscheinungszeiten der ersten markierten Zellen (Abb.7) ergibt sich eine Ausreifungszeit von 84 bzw. 60 Stunden. Diese Ausreifungszeit ist gegenüber den neutrophilen Granulozyten

sicher verkürzt, zumal man davon ausgehen kann, daß die Segmentierung einen zeitbedingten Reifungsprozeß darstellt und die eosinophilen Granulozyten im Blut mit wenigstens einmal segmentiertem Kern zu finden sind.

b) Aus dem Zeitpunkt der 100 %igen Markierung in der 240. bzw. 312. Stunde, ergibt sich, nach Abzug der Ausreifungszeit eine maximale Umsatzzeit von 156 bzw. 252 Stunden.

c) Die Dauer der 100 %igen Markierung nach Infusionsende kann bei M.S. bei nur einem einzigen 100 %igen Markierungswert nicht bewertet werden. Dieser Markierungsverlauf ist sicherlich auf ungünstige background-Verhältnisse zurückzuführen. Für den Patienten A.R. läßt sich aus der Dauer der 100 %igen Markierung eine durchschnittliche Durchgangszeit durch den proliferierenden Speicher von 96 Stunden ermitteln.

d) Aus dem prozentualen Verlauf unmarkierter Zellen läßt sich für die eosinophilen Granulozyten bei beiden Patienten eine Halbwertszeit ($T/2$ Abb. 10 und 11) von jeweils 24 Stunden ermitteln. Für die mittlere intravasale Durchgangszeit oder Transitzeit läßt sich daraus ein Wert von jeweils 35 Stunden errechnen.

e) Im Verlauf der Markierungsintensität (Abb. 7 und 8) zeigt sich für diese Zellgruppe ein ähnliches Verhalten wie bei den schon besprochenen. Der biphasische Ablauf ist auch hier nicht sehr deutlich zu separieren und bei dem Patienten A.R.

zeigt sich auch hier eine niedrigere Markierungsintensität. Für die Generationszeit läßt sich hier aus der Halbierungszeit der mittleren Körnchenzahl ein Wert von 120 bzw. 144 Stunden ermitteln.

f) Für die Produktionsrate läßt sich bei einer intravasalen Transitzeit von jeweils 35 Stunden eine zirkulierende Zellzahl von 738 bzw. 1950 pro mm^3 ein Einstrom von 21 bzw. 56 eosinophilen Zellen pro mm^3 und Stunde errechnen. Bezieht man diesen Einstrom, wie schon bei den vorher beschriebenen Zellgruppen, auf das Blutvolumen, so errechnet sich ein Absoluteinstrom von $9,5 \times 10^7$ bzw. 25×10^7 Zellen pro Stunde und bezogen auf das Körpergewicht beträgt der Einstrom $0,15 \times 10^7$ bzw. $0,41 \times 10^7$ eosinophile Granulozyten je Kg Körpergewicht und Stunde. Für die eosinophilen Granulozyten fanden sich in der verfügbaren Literatur keine eigenen Vergleichsdaten. Bei Untersuchungen der neutrophilen Granulozyten wird darauf hingewiesen, daß zum Zeitpunkt der stärksten Markierung auch eine starke Markierung bei den eosinophilen Granulozyten gefunden wird (19). Vergleicht man die hier gefundenen Daten mit Werten, die im Tierexperiment für die Eosinophilen gefunden wurden, so dürfte es sich hier um eine normal ablaufende Zellentwicklung handeln (31).

III. Voraussetzungen bei kurzzeitiger Markierungs- injektion über 24 Stunden. (Modifizierte flash- Injektion).

Für die Interpretation des Ansatzes M.S. II, bei dem eine nur 24-stündige Applikation vorgenommen wurde, gilt, im Gegensatz zu den oben angegebenen Bedingungen unter Dauermarkierung, eine ähnliche Voraussetzung wie bei einer flash-Injektion.

1. Das applizierte tritiierte Nucleosid ist durch raschen Katabolismus und exponentiell steile Ausscheidung maximal nur noch 60 Minuten nach Applikation verfügbar (14).

2. Daher werden mit der flash-Injektion und bei einer nur 24-stündigen Applikation von ^3H -TDR nur die Zellen markiert, die sich für den kurzen Verfügungszeitraum in der S-Phase befinden, während die Zellen in G1, G2 und M unmarkiert bleiben. Somit erreicht nach dem Injektionstermin ein Gemisch von Folgezellen unmarkierter und markierter Praecusoren die Blutbahn.

3. Im Gegensatz zu einer reinen flash-Injektion, ist bei diesem Ansatz mit einer auf 24 Stunden verlängerten Applikationszeit mit einem höheren Prozentsatz markierter Zellen zu rechnen. Bei einer reinen flash-Injektion werden meist nur zwischen maximal 30 und 40 % der Zellen markiert. In unserem Ansatz wurde ein Markierungsindex zwischen 55 und 70 % erreicht.

4. Durch das zeitlich begrenzte Angebot an exogenem markiertem Material gewinnt die schwer qualifizierbare Reutilisation von markierten Fragmenten sicherlich eine größere relative Bedeutung. Zumal nachgewiesen werden konnte, daß physiologisch im Knochenmark eine Reutilisation von Kernmaterial aus den Normoblasten besteht (30).

IV. Diskussion der über die verschiedenen Zelltypen bei Patient M.S. durch eine 24-stündige Infusion mit ^3H -Thymidin gewonnenen Daten.

1. Die Monozyten (Abb. 2 und 9) sind auch bei dieser Untersuchung ab der 24. Stunde nach Infusionsbeginn markiert. Somit ergibt sich die gleiche Ausreifungszeit wie bei der vorangegangenen Untersuchung. Diese Ausreifungszeit bewegt sich auch hier in den Zeitabschnitten, wie sie WHITELOW (66) mit 13 bis 26 Stunden nach flash-Markierung bei hämatologisch gesunden Patienten gefunden hat. Auch bei FLIEDNER et al. (23) wird bei hämatologisch gesunden Patienten eine Ausreifungszeit von bis zu 24 Stunden angegeben. Auch dieser Befund läßt darauf schließen, daß bei den Monozyten, im Gegensatz zu der bei den Granulozyten erwiesenen keine, oder nur sehr kurze Ausreifungszeit existiert (23,26). Wie schon ausführlich beschrieben wurde (23,66) muß es offenbar hier unmittelbar nach der Mitose des Praecursors (im Knochenmark) zu einer Auschwemmung der zirkulationsfähigen Monozyten

kommen. Daß es bei dieser Untersuchung im Gegensatz zu einer flash-Markierung zu einer relativ hohen Markierung kommt, ist sicher auf mehrere Faktoren zurückzuführen. Einerseits kann dies sicherlich dadurch bedingt sein, daß das Verhältnis der Dauer der DNS-Synthesezeit zur Generationszeit bei den Monozytenpraecusoren sehr hoch ist und andererseits spielen sicherlich die eingangs erwähnte Reutilisation von markiertem Material und die hier auf 24 Stunden verlängerte "flash-Injektion" eine Rolle.

2. Die stabkernigen und segmentkernigen neutrophilen Granulozyten (Abb. 4,6,9) bieten in diesem Ansatz eine bessere Möglichkeit zum Vergleich mit den Daten die FLIEDNER et al. (25,26,27,28,29) bei nicht hämatologisch erkrankten Patienten durch flash-Markierung gewinnen konnte.

a) Das erste Auftreten markierter Stabkerniger (Abb. 9) in der 72. Stunde entspricht dem bei FLIEDNER (25,26,27,28,29) mit 48 - 96 Stunden gefundenen Werten. Auch der ebenfalls 3 Tage dauernde Anstieg mit dem Erreichen des Maximums, hier zwischen 50 und 60 %, und dem danach einsetzenden spiegelbildlichen steilen Abfall, der vom 10. Tag an flach ausläuft, um am 20. Tag die 0-Linie zu erreichen, entspricht im wesentlichen dem dort beschriebenen Ablauf.

b) Auch der Ablauf in der Markierung bei den Segmentkernigen (Abb. 9) ergibt einen fast deckungsgleichen Markierungsverlauf wie er bei FLIEDNER (24,25) beschrieben wird. Der Kurvenverlauf ent-

spricht mit kleiner zeitlicher Versetzung im Anstieg, Erreichen des Maximums und Abfalls dem Verlauf, wie er bei den Stabkernigen sichtbar wurde. Der auch hier im Vergleich zu anderen flash-Markierungen höhere Markierungsindex ist sicherlich auf die schon eingangs erwähnten Gründe zurückzuführen.

3. Die eosinophilen Granulozyten (Abb. 9) zeigen auch in diesem Ansatz ein gleiches Verhalten wie bei der kontinuierlichen Untersuchung. Die ersten Markierten erscheinen ebenfalls in der 60. Stunde nach Markierungsbeginn. Es kommt auch hier wieder zu einem raschen Anstieg des Markierungsindex und nach Erreichen des Maximums zu einem schnellen Absinken der Markiertenzahl. Auch bei diesem Ansatz liegen keine beim Menschen gewonnenen Vergleichsdaten vor.

Vergleicht man bei dem Patienten M.S. die nach verschiedenen Markierungsansätzen gewonnenen Kurven, so ergibt sich eine Übereinstimmung in den Erscheinungszeiten der ersten markierten Zellen in der Steilheit des Anstieges und im Verlauf des Markierungsabfalls nach Erreichen des Maximums, was für gleiche Umsatzverhältnisse in beiden Ansätzen spricht.

4. Die Markierungsintensität (Abb. 2,4,6,8): Aus den Halbierungszeiten der MKZ bei dieser Untersuchung ergeben sich die gleichen Werte für die Generationszeiten, wie sie auch bei der Untersuchung nach kontinuierlicher Markierung gefunden wurden (Tab.1).

Im Verlauf der Markierungsintensität ergeben sich hier zwei Besonderheiten:

1. Die mittlere Körnchenzahl sinkt hier nur anfangs schnell ab, was auf die Verdünnung durch Zellteilung zurückzuführen ist, wobei, entsprechend der bei der Mitose ablaufenden Gesetzmäßigkeiten, immer nur die Hälfte der vorherigen Körnchenzahl an die jeweilige Nachfolgezelle weitergegeben wird. Dieser Ablauf findet sich am deutlichsten im Kurvenverlauf bei den Segmentkernigen und Eosinophilen (Abb. 6,8). Danach setzt sich die Verminderung der MKZ nur noch sehr langsam fort, was sicherlich auf die eingangs erwähnte Reutilisation zurückzuführen ist (34).

2. Bei den Monozyten und Stabkernigen (Abb. 2,3) ergibt sich zudem noch eine weitere Besonderheit: Hier findet sich nämlich nicht wie vorher schon geschrieben und zu erwarten wäre, die höchste MKZ am Anfang sondern erst nach einer gewissen Latenzzeit zu einem späteren Zeitpunkt (60. bzw. 144. Stunde). Erst danach kommt es zu dem schon beschriebenen erst steilen und später etwas verzögerten Absinken der mittleren Körnchenzahl. Dieser Verlauf läßt sich sicherlich auf 24 Stunden verlängerte "flash-Injektion" zurückführen, wobei es zu einer kurzzeitigen Kumulation des exogen zugeführten markierten Materials kommt.

Eine Übersicht über die in beiden Ansätzen gefundenen Daten geben die Tabellen I - III.

Wegen der Kurzmarkierung bei dem Patienten M.S. II sind methodisch nur die Werte für die Ausreifungs- und Generationszeit erhebbar.

TABELLE I

	Erstes Erscheinen markierter Zellen (Ausreifungszeit) (in Stunden)	Maximale Umsatzzeit (in Stunden)	Generationszeit (in Stunden)
Monozyten			
A.R.	24.	168	112
M.S.I	24.	108	102
M.S.II	24.	---	86
Stabkernige			
A.R.	94.	122	167
M.S.I	72.	120	105
M.S.II	72.	---	120
Segmentkernige			
A.R.	108.	---	152
M.S.I.	84.	108	130
M.S.II	84.	---	130
Eosinophile			
A.R.	84.	156	120
M.S.I	60.	252	144
M.S.II	60.	---	110

TABELLE II

	Halbwertszeit T 1/2 (in Stunden)	Mittlere intravasale Transitzeit (in Stunden)	Mittlere Durchgangszeit durch den proliferierenden Speicher (in Stunden)
Monozyten	A.R. 15,6	23,0	24
	M.S.I 18,2	26,0	48
Stabkernige	A.R. 16,8	24,3	---
	M.S.I 15,6	22,5	144
Segmentkernige	A.R. 24,0	34,5	---
	M.S.I 14,2	20,5	120
Eosinophile	A.R. 24,0	35,0	86
	M.S.I 24,0	35,0	---

TABELLE III

	Absolute Zellzahl pro mm ³	Einstromrate: Zellen/KG-Körper- Gewicht/Stunde
Monozyten		
A.R.	1476	$0,48 \times 10^7$
M.S.I	1170	$0,33 \times 10^7$
Stabkernige		
A.R.	738	$0,22 \times 10^7$
M.S.I	1040	$0,35 \times 10^7$
Segmentkernige		
A.R.	4428	$1,10 \times 10^7$
M.S.I	5720	$2,10 \times 10^7$
Eosinophile		
A.R.	738	$0,15 \times 10^7$
M.S.I	1950	$0,41 \times 10^7$

V. Die Kinetik der nicht lymphatischen Lymphozyten bei chronischer Lymphadenose.

Aus der Darstellung und Diskussion der Einzelbefunde im Vergleich mit den nur beschränkt vorliegenden Normaldaten ergibt sich für die Monozyten eine offenbar normale Ausreifungszeit und normale Durchgangszeit durch das proliferierende Kompartiment. Dem gegenüber scheint die mittlere intravasale Transitzeit als Umsatzzeit in der Strombahn verlängert; da dieser Wert der verlässlichste Parameter zur Kalkulation der gesamten Produktionsrate ist, resultiert hier eine geringe Verminderung, so fern keine erhöhte Speicherung neuproduzierter Monozyten in den Produktionsstätten stattfindet, wofür kein Anhalt vorliegt (62).

Für die stabkernigen neutrophilen Granulozyten ergibt der Vergleich mit den oben zitierten Normaldaten eine normale Ausreifungszeit, Durchgangszeit durch das proliferierende Kompartiment und intravasale Transitzeit.

Die Ausreifungszeit vom Stabkernigen zum Segmentkernigen ist ebenfalls normal.

Die segmentkernigen Neutrophilen weisen zwar normale Ausreifungszeit und Durchgang durch den proliferierenden Speicher auf, bieten jedoch eine deutliche verlängerte intravasale Umsatzzeit und mäßig reduzierte Gesamtproduktionsrate.

Die eosinophilen Granulozyten weisen in den vergleichbaren Parametern normales kinetischen Verhalten auf.

Insgesamt läßt sich hieraus ableiten, daß die qualitativen proliferationskinetischen Parameter der Granulo- und Monozytopoese, die sichere Aussagen über die Zellzyklen ermöglichen, nämlich die Ausreifungszeiten und Durchgangszeiten durch das proliferierende Vorläuferkompartiment, nicht gestört sind, während der quantitative intravasale Umsatz und die Gesamtproduktionsrate reduziert erscheinen.

VI. Die Störung der Kinetik der nicht lymphatischen Leukozyten im Zusammenhang mit dem Pathomechanismus der chronischen Lymphadenose.

Die chronische Lymphadenose läßt sich nach der Definition von DAMESHEK (20) als Akkumulationskrankheit immunologisch inkompetenter Lymphozyten auffassen. Kinetische Untersuchungen zeigten, daß die durchschnittliche Lymphozytenlebensdauer um das Fünffache, die Gesamtproduktion aber um das Zehnfache gesteigert ist (THEML et al. (61), SCHICK (57)). Diese Produktions- und Abbaustörung führt zur Expansion der lymphatischen Produktionsstätten in Lymphknoten, Milz, Knochenmark und diffusem lymphatischem Gewebe. Demnach besteht eine zirkulationskinetische Störung im Sinne verminderten Austausches der zirkulierenden Lymphozyten mit extravasalen Speichern (BREMER und FLIEDNER (9)) und

eine Hemmung der Rezirkulation über den Ductus thoracicus (5,9).

Die Frage, durch welchen ätiologischen Faktor diese Fehlentwicklung der Lymphozyten bei CLL ausgelöst wird, ist derzeit noch nicht zu beantworten (59). Nach neueren experimentell belegten Vorstellungen (29) entwickelt sich die gesamte Hämatopoese von einer lymphozytenähnlichen pluripotenten Stammzelle (Abb. 14), von der sich spezifische reaktive Stammzellen abzweigen. Da nach den vorliegenden Ergebnissen die Ausreifung der Myelopoese als qualitativ normal zu bezeichnen ist, kann die pathognomische Störung bei CLL nicht auf der Stufe der pluripotenten Stammzelle angreifen. Da neuere Untersuchungen die pathologischen Lymphozyten der CLL als gestörte B-Zellen beschreiben, während normale T- und B-Lymphozyten in geringeren Anteilen demnach vorkommen (Übersicht bei THEML und HUBER (60) und COHNEN (15)) wäre eine sehr peripher angreifende ätiologische Noxe zu postulieren. Die dargelegten Ergebnisse einer qualitativ normalen Myelopoese-Kinetik belegen ferner das in Abb. 14 dargestellte Konzept einer Unabhängigkeit der Myelopoese von der Lymphopoese; die gestörte B- und T-Zellausreifung interferiert offenbar in keiner Weise mit der Ausreifung Segmentkerniger, Eosinophilen und Monozyten.

Die dargestellte Lymphozytenakkumulation und ihre Proliferationssteigerung geht nach den Untersuchungen von WASI und BLOCK (63) zunächst auf

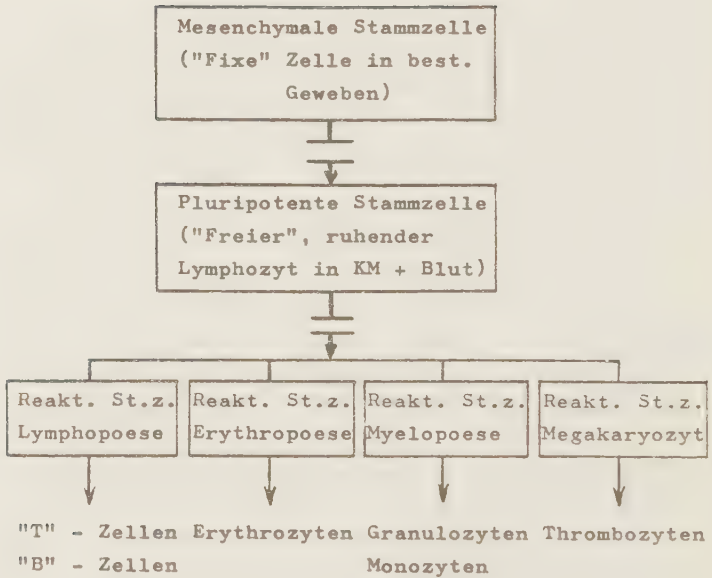


Abb. 14 Differenzierungsschema der Stammzelle
(nach FLIEDNER, T.M. 1975) (29)

Kosten des Fettmarks vor sich. Erst allmählich und in fortgeschritteneren Stadien der Erkrankung erfolgt eine lymphozytäre Expansion, die zur Einschränkung der übrigen Hämatopoese führt. Demnach erklärt sich die gefundene mäßige quantitative Reduktion der Myelopoese durch allmähliches Überwiegen der lymphatischen Elemente in der Knochenmarksökologie auf Kosten der Granulozyto- und Monozytopoese.

Wie in unseren Fällen, werden aber auch in hochleukämischen Fällen absolute Granulozytopenien selten beobachtet. MILLER (48); HANSEN (37) beobachtete allerdings in 28 % der Fälle im Verlauf der Erkrankung Phasen mit Werten unter $1.500/\mu\text{l}$, wobei jedoch häufig eine gesteigerte Sequestration durch Hypersplenie zu berücksichtigen ist.

Die Diskrepanz zwischen noch normalen peripheren Granulozytenwerten und sich errechnender reduzierter Gesamtproduktionsrate findet eine Erklärung von Befunden von SENN (58), wonach bei CLL eine massive Störung der Auswanderung der Granulozyten aus der Strombahn in skarifizierte Hauptgebiete besteht. Demnach hält eine leicht reduzierte Granulozytenproduktion normale Blutwerte dadurch aufrecht, indem eine verminderte Elimination erfolgt. Die Ursache der Elimination bzw. Emigrationsstörung ist nicht eindeutig belegbar. Wenn man jedoch die dargestellte intravasale Lymphozytenakkumulation in allen Kompartimenten berücksichtigt, wäre eine mechanisch-rheologische Hemmung der Emigration von Granulozyten denkbar.

Bei den Monozyten, die in absoluten Blutwerten in unseren Fällen nicht erniedrigt waren, jedoch eine leicht reduzierte Gesamtproduktionsrate aufwiesen, scheint sich eine ähnliche Erklärung anzubieten: RIIS (54) und BEGEMANN und ZAWADSKY (3) wiesen eine stark verminderte Auswanderung in das Hautfenster auf Skarifizierungsreiz nach.

Die klinische Infektlabilität bestimmt neben Anämie und Thrombozytopenie den Krankheitsverlauf bei chronischer Lymphadenose entscheidend. Im Krankengut von HANSEN (37) erlagen 73 % der Patienten einer unbeherrschbaren Infektion. Hierbei ist die Rolle der immunologischen Einzelfaktoren nicht endgültig geklärt.

E) Zusammenfassung

Es wurden bei zwei Patienten mit chronischer Lymphadenose autoradiographische Untersuchungen an den Blutmono- und Blutgranulozyten nach Markierung mit ^3H -Thymidin vorgenommen. Die Untersuchungen erfolgten zum einen bei zwei Patienten (A.R. und M.S. I) nach einer kontinuierlichen Infusion von ^3H -TDR über 7 Tage und zum anderen bei einem Patienten (M.S. II) nach extracorporaler Blutbestrahlung mit einer 24-stündigen Markierung mit ^3H -Thymidin. Bei beiden Ansätzen wurden Blutproben, anfangs in stündlichem und später in 10- bzw. 12-stündlichem Abstand entnommen und nach bekannter Methode für die Auswertung weiter bearbeitet.

Aus den gefundenen Daten wurden die Werte für die

proliferationskinetischen Parameter, wie die Ausreifungszeit, die Durchgangszeit durch das proliferierende Praecusorenkompartiment, die intravasale Umsatzzeit und die Gesamtproduktionsrate für die Monozyten, stabkernigen und segmentkernigen neutrophilen Granulozyten und der eosinophilen Granulozyten ermittelt. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen im ersten Ansatz im Vergleich zu bekannten Normaldaten, daß bei bestehender chronischer Lymphadenose eine qualitativ ungestörte Monozyten- und Granulozytenbildung besteht. Daß es aber im quantitativen Ablauf zu einer mäßig reduzierten Gesamtproduktionsrate und einer verlängerten intravasalen Transitzeit kommt.

Im zweiten Ansatz der Kontrolluntersuchung bei dem Patienten M.S. (M.S.II) nach Therapie, bei der, wegen der Kurzmarkierungszeit, methodisch nur die Werte für die Ausreifungs- und Generationszeit erhebbar sind, zeigt sich ebenfalls eine qualitativ ungestörte Monozyto- und Granulozytopoese.

Insgesamt läßt sich sagen, daß bei chronischer Lymphadenose, entsprechend des erwähnten Pathomechanismus, eine qualitativ ungestörte aber quantitativ leicht reduzierte Monozyto- und Granulozytopoese neben einer verlängerten intravasalen Transitzeit besteht.

F. Literaturverzeichnis

1. ATHENS, J. W., A.M. MAUER, H. ASHENBRUCKER, G.E. CARTWRIGHT and M.M. WINTROBE: A method for labeling leukocytes with radioactive diisopropyl-fluorophosphate (DFP³²). Ann. New. York Acad. Sc. 77, 773 (1959).
2. BEGEMANN, H., J. RASTETTER und W. KABOTH: Klinische Hämatologie. G. Thieme Verlag Stuttgart 1972.
3. BEGEMANN, H., E. ZAWADZKY: Hautfenster-Untersuchungen bei verschiedenen Blutkrankheiten. Med. Klin. 62, 90 (1967).
4. BEGEMANN, H. und H-G. HARWERTH: Praktische Hämatologie. G. Thieme Verlag Stuttgart 1971.
5. BINET, H.L., Y. LOGEAYS, B. VILLENEUVE, J. METHEY, J. BERNARD: Examen de la lympe au cours de la leucemie lymphoide chronique. Nouv. Rev. Franc. Hemat. 6, 568 (1966).
6. BISHOP, G.R., G. ROTHSTEIN, H. ASHENBRUCKER and J.W. ATHENS: Leukokinetic Studies XIV, Blood Neutrophil kinetics in chronic steady-state neutropenia. J. Clin. Invest. 50, 1678 (1971).
7. BOGGS, D.R.: The cellular composition of the inflammatory exsudates in human leukemias. Blood 15, 466 (1960).
8. BOLL, I.: Granulopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Experimentelle Medizin, Pathologie und Klinik Band 17. Springer Verlag Berlin 1966.

9. BREMER, K. und T.M. FLIEDNER: Neuere Gesichtspunkte zur Kinetik von Lymphozytenpopulationen. In: Leukämien und maligne Lymphome Ed: Stacher A. Urban und Schwarzenberg München - Berlin - Wien 1973 PP. 202 .
10. BREMER, K., P. SCHICK, O. WACK, H. THEML, B. BRASS, H. HEIMPEL: Rezirkulation von Lymphozyten bei Patienten mit malignen lymphatischen Systemerkrankungen. Blut 24, 215 (1972).
11. CARTWRIGHT, G.E., J.W. ATHENS and M.M. WINTROBE: The kinetics of granulopoiesis in normal man. Blood 24, 780 (1964).
12. CHRISTENSEN, C. and J. OTTESEN: The age of leukocytes in the blood stream of patients with chronic lymphatic leukemia. Acta Haematologica 13, 289 (1955).
13. CLARKSON, B., A. STRIFE, J. FRIED, Y. SAKAI, K. OTA, T. OHKITA and R. MASUDA: Studies of cellular proliferation in human leukemia IV. Behavior of normal hematopoietic cells in 3 adults with acute leukemia given continuous infusions of ^3H -Thymidine for 8 or 10 days. Cancer 26, 1 (1970).
14. CLEAVER, J.E.: Thymidine metabolism and cell kinetics. North. Holl. Publ. Comp. Amsterdam 1967.
15. COHNEN, G.: Klinisch-diagnostische Bedeutung der Oberflächenmarker und menschlicher T- und B-Lymphozyten. Dtsch. med. Wschr. 99, 2302 (1974).
16. CRONKITE, E.P., V.P. BOND, T.M. FLIEDNER, J.R. RUBINI and S.A. KILLMANN: Studies on the life cycle of normal and neoplastic leukocytes by labeling DNA with tritiated thymidine. IX

Intern. Congress of Radiologie 1959 München
Boris Rajewsky G. Thieme Verlag Stuttgart 1961.

17. CRONKITE, E.P., T.M. FLIEDNER, V.P. BOND,
J.R. RUBINI, G. BRECHER and H. QUASTLER:
Dynamics of hemopoietic proliferation in man
and mice studied by ^3H -Thymidin incorporation
into DNA. Ann. N.Y. Acad. Sci. 77, 190 (1959).
18. CRONKITE, E.P., T.M. FLIEDNER, J.R. RUBINI,
V.P. BOND and W.L. HUGHES: Dynamics of pro-
liferating cell systems of men studied with
tritiated thymidine. J. Clin. Invest. 37, 887
(1958).
19. CRONKITE, E.P. and T.M. FLIEDNER: Granulocyto-
poiesis. The New England Journal of Medicine
270, 1347 (1964).
20. DAMESHEK, W.: Chronic lymphocytic leukemia -
an accumulative disease of immunologically
incompetent lymphocytes. Blood 29, 566
(1967).
21. DONIACH, I. and S.R. PELC: Autoradiograph
technique. British Journal of Radiologie
23, 184 (1950).
22. EHRLICH, P.: Beiträge zur Kenntnis der Anilin-
färbungen und ihrer Verwendung in der mikros-
kopischen Technik. Arch. mikrosk. Anst. 13,
263 (1877).
23. FLIEDNER, T.M., F. LAEGER and E.P. CRONKITE:
Zyrokinetische Untersuchungen an menschlichen
Blutmonozyten. Sonderdruck aus DER MONOZYT,
Herausg. H. Brücher, J.F. Lehmanns Verlag
München 1967, PP 39 .

24. FLIEDNER, T.M.: Der Lebenszyklus Neutrophiler Granulozyten, Habilitationsschrift vorgelegt der Med. Fak. der Universität Freiburg/Breisgau 1964.
25. FLIEDNER, T.M., E.P. CRONKITE and V.P. BOND: Die Proliferationsdynamik der Blutzellbildung, autoradiographisch untersucht mit tritiummarkiertem Thymidin. Schweiz. Med. Wochenschrift 89, 1061 (1959).
26. FLIEDNER, T.M.: Kinetik und Regulationsmechanismen des Granulozytenumsatzes. Schweiz. Med. Wochenschrift 98, 104 (1974).
27. FLIEDNER, T.M., E.P. CRONKITE and J.S. ROBERTSON: Granulopoiesis. I. Senescence and random loss of neutrophilic granulocytes in human beings. Blood 24, 402 (1964).
28. FLIEDNER, T.M., E.P. CRONKITE, S.A. KILLMANN and V.P. BOND: Granulocytopoiesis. II. Emergence and pattern of labeling of neutrophilic granulocytes in humans. Blood 24, 683 (1964).
29. FLIEDNER, T.M.: Hämo-poetische Stammzellen: Eine Teilpopulation der Lymphozyten. In: Lymphozyt und Klinische Immunologie, Ed: THEML, H. und H. Begemann. Springer, Berlin-Heidelberg - New York (1975).
30. FEINENDEGEN, L.E., V.P. BOND and W.L. HUGHES: Physiological thymidin reutilisation in rat bone marrow. Proc. Soc. exp. Biol. 122, 448 (1966).
31. FOOT, E.C.: Eosinophil turnover in the normal rat. Brit. J. Haemat. II 439 (1965).

32. GALBRAITH, P.R., CHIAKKAPPA and H.T. ABU-ZAHRA: Patterns of granulocyte kinetics in acute myelogenous and myelomonocytic leukemia. *Blood* 36, 371 (1970).
33. GERECKE, D., B. SCHULTZE und W. MAURER: Autoradiographische Bestimmung der mittleren Verweilzeit neutrophiler Granulozyten im Blut der Ratte mittels Dauerinfusion von ^3H -Thymidin. *Experientia* 26, 311 (1970).
34. GERECKE, D., D. SCHULTZE and W. MAURER: Kinetics of neutrophilic granulocytes in the blood of rats. *Cell Tissue Kinet.* 6, 369 (1973).
35. GREENBERG, P.L. and S.L. SCHRIER: Granulopoiesis in neutropenic disorders. *Blood* 41, 753 (1973).
36. GROB, D., J.L. LILIENTHAL, J. HARVEY and B.F. JONES: The administration of (DFP) diisopropylfluorophosphate to man. *Bull Johns Hopkins Hosp.* 81, 217 (1947).
37. HANSEN, M.M.: Chronic lymphocytic leucemia. *Scand. J. Haemat. Suppl.* 18. Munksgaard. Copenhagen (1973).
38. HARBERGS, E.: Nucleinsäuren. G. Thieme, Stuttgart (1969).
39. HUGHES, W., V.P. BOND, G. BRECHER, E.P. CRONKITE, R.B. PAINTER, H. QUASTLER and F.G. SHERMAN: Cellular proliferation in mouse as revealed by autoradiography with tritiated thymidin. *Proc. Nat. Acad. Sc.* 44, 476 (1958).

40. KILLMANN, S.A.: Akute Leukemia: The kinetics of leukemic blast cells in man. Ser. Haemat. 1, 38 (1968).
41. KING-SMITH, E.A. and A. MORLEY: Computer simulation of granulopoiesis: Normal and impaired granulopoiesis. Blood 36, 254 (1970).
42. KLINE, D.L. and E.E. CLIFTON: Life-span of leucocytes in man. Journal Applied Physiology 5, 79 (1952).
43. LAJTHA, L.G. and R. OLIVER: The application of autoradiography in the study of nucleic acid metabolism. Laboratory Investigation 8, 214 (1959).
44. LEEKSMAN, C.H.W. and J.A. COHN: Determination of the life span of human blood platelets using labeled diisopropylfluorophosphat (DFP³²). J. clin. Invest. 35, 964 (1956).
45. MAUER, A.M., J.W. ATHENS, H. ASHENBRUCKER, G.E. CARTWRIGHT and M.M. WINTROBE: Leukokinetic studies. II. A method for labeling granulocytes in vitro with radioactive diisopropylfluorophosphat (DFP³²). J. clin. Invest. 39, 1481 (1960).
46. MEURET, G., G. HOFFMANN, T.M. FLIEDNER, M. RAU, S. OEHL, R. WALZ and A. v. KLEIN-WISENBERG: Neutrophil kinetics in man, studies using autotransfusion of ³H-DFP labeled blood cells and autoradiography. Blut 26, 97 (1972).
47. MEURET, G.: Monocytopoese und Kinetik der Blutmonozyten beim Menschen. Blut 24, 337 (1972).

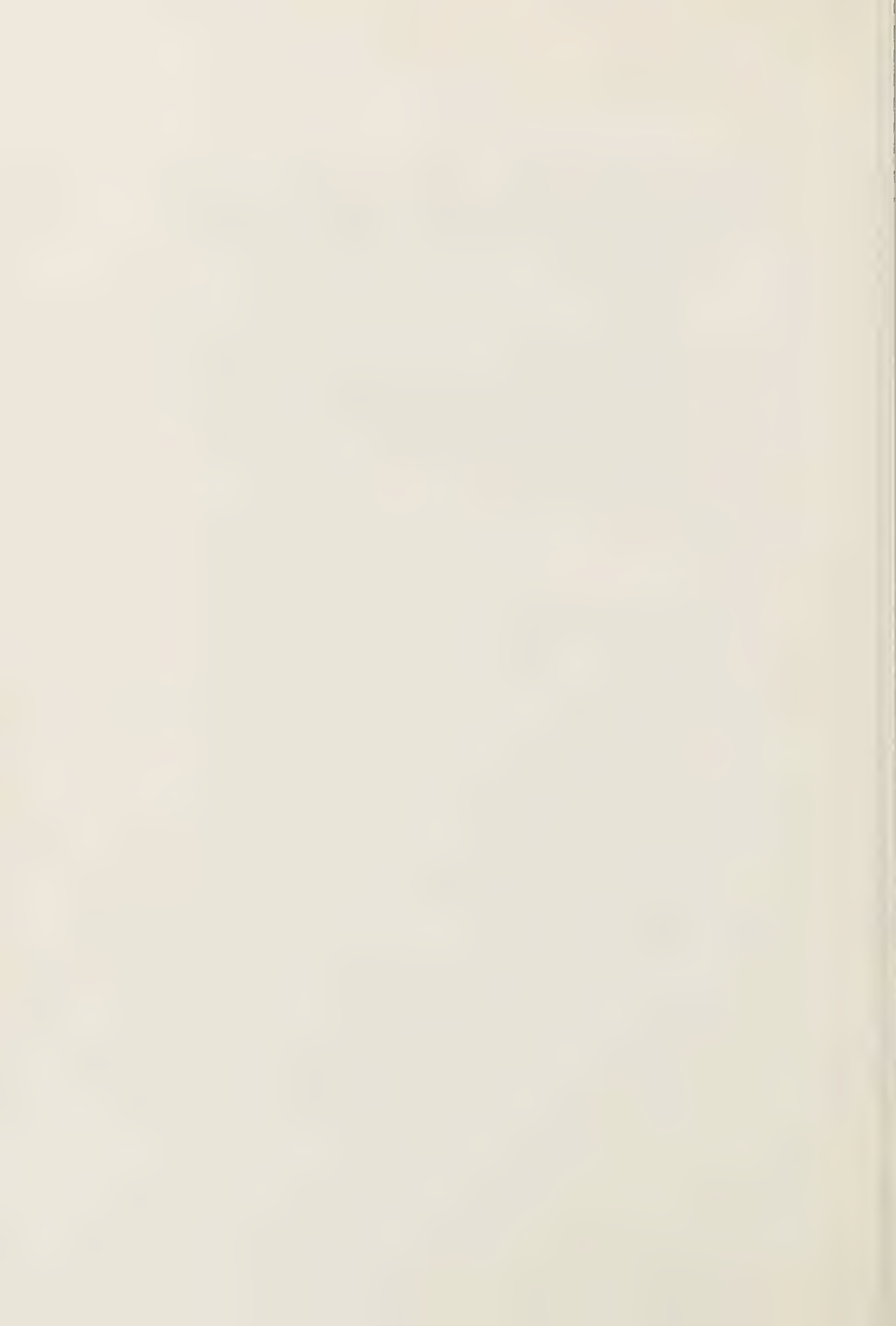
48. MILLER, D.G., J.M. BUDINGER und D.A. KARNOFSKY:
A clinical and pathological study of resistance
to infection in chronic lymphatic leukaemia.
Cancer 15, 307 (1962).
49. MOESCHLING, S.: Ausreifungszeit, Mitosedauer
und täglicher Umsatz der granulierten Leuko-
zyten. Schw. Med. Wschr. 76, 1051 (1946).
50. OHARA, k., J. FRIED, M.D. DOWLING, E.S. BITTAR,
and B.D. CLARKSON: Studies of cellular proli-
feration in human leukemia. VI. Cytokinetic
behavior of neoplastic cells in an patient
with reticulum cell sarcoma in a leukemia
phase. Cancer 28, 862 (1971).
51. OSGOOD, E.E., H. TIVEY, K.B. DAVISON,
A.J. SEAMAN and J.G. LI: The relative
rates of formation of new leukocytes in
patient with acutes and chronic leukemias
measured by the uptake of radioactive phos-
phorus in the isolated desoxyribosenucleic
acid. Cancer 5, 331 (1952).
52. OTTESEN, J.: On the age of human white cells
in peripheral blood. Acta Physio. Scand.
32, 75 (1954).
53. PERRY, S.: Circulation lymphocytaire chez
l'homme normal. Noor. Rev. Franc. Hemat.
8, 603 (1968).
54. RIIS, P.: The cytology of inflammatory exsudate.
Munksgaard, Copenhagen (1959).
55. ROBINSON, S.H., G. BRECHER, I.S. LOURIE and
J.E. HALEY: Leukocyte labeling in rats during
and after continuous infusion of tritiated

- thymidine. Implications for lymphocyte longevity and DNA-Reutilisation. *Blood* 26, 281 (1965).
56. SABIN, F.R., R.S. CUNNINGHAM, C.A. DOAN and J.A. KINDWALL: The normal rhythm of white blood cells. *Johns Hopkins Hospital Bull* 37, 14 (1925).
 57. SCHICK, P.: Lymphozytenkinetik bei lymphatischen Systemerkrankungen (chron. Lymphatische Leukämie, Lymphogranulomatose). *Verh. Dtsch. Ges. Med.* 79, 154 (1973).
 58. SENN, H.: *Infektabwehr bei Hämoblastosen*. Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1972.
 59. THEML, H.: Die chronische lymphatische Leukämie. In: *Handbuch der Inneren Medizin II*, 6. Ed: BEGEMANN, H., Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1975 (in press.).
 60. THEML, H., H. HUBER: Neue Daten zur Charakterisierung der Lymphozyten bei chronischer lymphatischer Leukämie. *Med. Klin.* 70, 509 (1975).
 61. THEML, H., F. TREPEL, P. SCHICK, W. KABOTH and H. BEGEMANN: Kinetics of lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia: Studies using continuous ^3H -Thymidine infusion in two patients. *Blood* 42, 623 (1973).
 62. TREPEL, F., H. THEML, P. SCHICK, G. SCHNEBLE, K. BREMER, T.M. FLIEDNER und H. BEGEMANN: Kontinuierliche ^3H -Thymidin-Infusion bei CLL: II. Proliferation der Lymphknotenzellen. In: *Leukämie*, Ed: R. Gross, I. van de Loo, Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1972, pp 187-191.

63. WASI, P. und M. BLOCK: The mechanism of the development of anemia in untreated chronic lymphatic leukemia. Blood 17, 597 (1961).
64. WEICKER, H.: Ein quantitatives Modell der Granulopoese. Schweiz. Med. Wschr. 8, 1459 (1956).
65. WEISKOTTEN, H.G.: The normal life span of the neutrophile (Amphophile) leukocytes (Rabbit), The action of bencol IX. Am. Journal of Pathologie 6, 183 (1930).
66. WHITELOW, D.M.: Observation on human monocyte kinetics after pulse labeling. Cell Tissue Kinet. 5, 311 (1972).
67. ZIMMERMANN, T.S., H.A. GODWIN and S. PERRY: Studies of leukocyte kinetics in chronic lymphocytic leukemia. Blood 31, 277 (1968).

Herrn Professor Dr. Begemann danke ich für die Überlassung dieser Arbeit und für die Möglichkeit, die Einrichtungen des Hämatologischen Labors seiner Klinik zu benutzen.

Bei der technischen Durchführung leistete mir Herr Dr. med. H. Thöml Beistand; seine und Herrn Dr. P. Schick's unermüdliche Hilfsbereitschaft und freundschaftliche Kritik erleichterte mir wesentlich die Einarbeitung in die Thematik.



Lebenslauf

Ich bin am 19.7.1942 in Offenbach/Main als Sohn des Müllermeisters Wilhelm Heltzel und seiner Frau Betty, geb. Köllisch, geboren.

In Hergershausen besuchte ich 8 Jahre die Volksschule, eine anschließende Müllerlehre bei meinem Vater habe ich im März 1960 mit der Gesellenprüfung beendet. Nach einer 2-jährigen Gesellenzeit begann ich im April 1962 meine Lehrzeit zum Großhandelskaufmann, die ich mit der Kaufmannsgehilfenprüfung im Sept. 1964 beendete. Anschließend war ich bei meiner Lehrfirma und danach bis April 1968 bei der Firma Ihrig Nachfg. als Buchhalter beschäftigt. Währenddessen besuchte ich ab Okt. 1964 das Abendgymnasium in Darmstadt; im März 1968 legte ich das Abitur ab.

Im Mai 1968 begann ich in München das Studium der Medizin; bestand im Herbst 1969 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, im Frühjahr 1971 die ärztliche Vorprüfung und beschloß meinen Studiengang im Juni 1974 mit dem medizinischen Staatsexamen.

Seit August 1968 bin ich mit meiner Frau Gabriele, geborene Günther, verheiratet.

Im Okt. 1974 setzte ich meine Ausbildung auf der II. Kinder-Abteilung des Städtischen Krankenhauses München-Schwabing als Medizinalassistent fort, anschließend verbrachte ich ab Febr. 1975 vier Monate auf der I. Medizinischen Abteilung des gleichen Hauses.

Zur Zeit arbeite ich als Medizinalassistent auf der Chirurgischen Abteilung des Kreis-Krankenhauses Bad Aibling.

Introduction

The first part of the book is devoted to a general survey of the history of the subject. It begins with a brief account of the early attempts to explain the phenomena of light, and then proceeds to a more detailed consideration of the various theories which have been advanced from time to time. The second part of the book is devoted to a more detailed consideration of the various theories which have been advanced from time to time. It begins with a brief account of the early attempts to explain the phenomena of light, and then proceeds to a more detailed consideration of the various theories which have been advanced from time to time.

The third part of the book is devoted to a more detailed consideration of the various theories which have been advanced from time to time. It begins with a brief account of the early attempts to explain the phenomena of light, and then proceeds to a more detailed consideration of the various theories which have been advanced from time to time.

The fourth part of the book is devoted to a more detailed consideration of the various theories which have been advanced from time to time. It begins with a brief account of the early attempts to explain the phenomena of light, and then proceeds to a more detailed consideration of the various theories which have been advanced from time to time.

The fifth part of the book is devoted to a more detailed consideration of the various theories which have been advanced from time to time. It begins with a brief account of the early attempts to explain the phenomena of light, and then proceeds to a more detailed consideration of the various theories which have been advanced from time to time.

